



TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO  
TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

# HALOGEENISIDOKSEN MUODOSTAVAN STILBEENIJOHDAN- NAISEN LANGMUIR- JA LANGMUIR-SCHAEFFER-KALVOJEN VALMISTAMINEN JA KARAKTERISOINTI

Diplomityö

Tarkastaja: Yliopiston lehtori Elina  
Vuorimaa-Laukkanen ja akatemia-  
tutkija Arri Priimägi  
Tarkastajan ja aiheen hyväksynyt  
Teknisten tieteiden tiedekunnan de-  
kaani 9. elokuuta 2018

## TIIVISTELMÄ

**EMMA RAJALA:** Halogeenisidoksen muodostavan stilbeenijohdannaisen Langmuir- ja Langmuir-Schaeffer-kalvojen valmistaminen ja karakterisointi

Tampereen teknillinen yliopisto

Diplomityö, 50 sivua

Maaliskuu 2018

Teknisten tieteiden tiedekunta, Materiaalitekniikan diplomi-insinöörin tutkinto-ohjelma

Pääaine: Materiaalikemia

Tarkastajat: Yliopistonlehtori Elina Vuorimaa-Laukkanen ja akatemiatutkija Arri Priimägi

**Avainsanat:** stilbeenijohdannainen, Langmuir-kalvo, Langmuir-Schaeffer-kalvo, absorptio, fluoresenssi

Tässä työssä tutkitaan, voiko jodotetrafluorostilbeenijohdannaisesta valmistaa Langmuir-kalvoja (L-kalvoja) ja edelleen Langmuir-Schaeffer-kalvoja (LS-kalvoja) seostamatta sitä muilla aineilla. Valmistetuista kalvoista tutkittiin stilbeenijohdannaisen rakenteessa ja sitoutumisessa tapahtuvia muutoksia ja kalvojen stabiiliutta eri olosuhteissa.

Stilbeenijohdannaisesta valmistettiin LS-kalvoja, joita altistettiin erilaisille lämpötiloille ja valon aallonpituuksille. Muutoksia yhdisteen rakenteessa tai sitoutumisessa selvitettiin pääasiassa absorptio- ja fluoresenssispektrien avulla. Kalvon pintaa tutkittiin L-kalvoa valmistettaessa Brewsterin kulma-mikroskoopilla (BAM) ja havaittiin, että stilbeenijohdannainen ei muodosta yhtenäistä molekyylikalvoa ja vaan pääosin kiteisiä lauttoja. LS-kalvon pintaa tutkittiin pyyhkäiselektronimikroskoopilla (SEM) ja kalvoissa havaittiin epätasaisuutta; lauttoja ja kiteitä.

Tutkittaessa näyteliuoksen lämpötilan vaikutusta LS-kalvon absorptiospektriin, havaittiin, että kylmästä, 0-4 °C, liuoksesta valmistetulla LS-kalvolla oli absorbanssiltaan paras spektri. LS-kalvon säilytyslämpötilan vaikutusta tutkittiin säilyttämällä kalvoja neljässä eri lämpötilassa. -24 °C säilytetyn LS-kalvon absorptiospektri säilyi lähes muuttumattomana. Eniten näytteen absorptiospektri muuttui +50 °C säilytetyllä LS-kalvolla.

Valon vaikutusta tutkittaessa havaittiin, että pimeässä säilytetyn kalvon fluoresenssin intensiteetti ensin kasvaa ja sitten vasta alkaa laskea lähestyen nollaa. Absorptiospektreissä havaittiin vastaava absorbanssin lasku lähes nollaan.

Absorbanssin ja fluoresenssin intensiteetin pieneneminen viittaa yhdisteen hajoamiseen valon ja ilman vaikutuksesta. Työssä tutkittu stilbeenijohdannainen ei ole tarpeeksi kestävä käytännön sovelluksiin, koska se pysyy muuttumattomana vain kylmässä ja pimeässä.

## ABSTRACT

**EMMA RAJALA:** Preparation and characterisation of Langmuir- and Langmuir-Schaeffer-films from halogen-bond forming stilbene derivative

Tampere University of Technology

Master of Science Thesis, 50 pages

March 2018

Master's Degree Programme in Material Science

Major: Material Chemistry

Examinors: University Lecturer Elina-Vuorimaa-Laukkanen and Assistant Professor Arri Priimägi

**Keywords:** stilbene-derivative, Langmuir-film, Langmuir-Schaeffer-film, absorption, fluorescence

The purpose of this study was to find out if it is possible to prepare Langmuir films (L-films) and Langmuir-Schaeffer films (LS-films) from a iodotetrafluorostilbene derivative as such, without the help of surfactants. The stability of the stilbene derivative films were studied by spectroscopic methods.

The formation and morphology of L-films was studied by Brewster angle microscopy (BAM). According to the obtained BAM images, instead of a homogeneous film, the stilbene derivative forms crystalline rafts. The morphology of the LS-films were studied by scanning electron microscopy (SEM) and the films were found to be unhomogeneous and to contain small crystallites. The effect of the temperature of stilbene derivative solution on the absorption spectrum of the LS-film prepared of it was studied. The best result was obtained from films that were prepared from cold, 0 – 4 °C, solutions.

The LS-film prepared from the stilbene derivative were subjected to different temperatures and wavelengths of light. Absorption and fluorescence spectra were used to study the changes occurring in the films. The effect of the temperature on the films was studied by storing the films in four different temperatures. For the sample stored at -24 °C the changes in the absorption spectrum were insignificant. The largest changes were observed for the sample stored at +50 °C. In studying the effect of light on the stilbene derivative LS-films, it was found that for a sample stored in dark, the fluorescence intensity first increased and only after longer storage started to decrease towards zero. In the same time the absorbance of the film decreased to zero. The decrease of absorbance and fluorescence intensity to close to zero indicates that the stilbene derivative disintegrates due to exposure to light and air. Thus, the stilbene derivative used in this study is not stable enough for practical applications.

## ALKUSANAT

Tämän diplomityön mittaukset on tehty Tampereen teknillisen yliopiston Kemian laboratoriossa. Haluan kiittää työn tarkastajia Elina Vuorimaa-Laukkasta ja Arri Priimägiä työhön liittyvistä neuvoista ja opastuksesta. Elinaa haluan kiittää erityisesti selkeistä ohjeista ja kannustavasta tavasta neuvoa ja opastaa sekä yleisestä kannustamisesta ja uskosta siihen, että tämä työ aikanaan valmistuu. Kiitos myös kaikille laboratoriossa neuvoja ja opastusta antaneille sekä muille diplomityön tekijöille tuesta yhteisten ongelmien kanssa.

Lisäksi haluan kiittää ystäviäni ja erityisesti puolisoani Tuomas Salomaata kannustuksesta ja tuesta. Kiitos heille myös siitä, että he antoivat minulle välillä muuta ajateltavaa ja toisaalta pitivät arjessa kiinni.

## SISÄLLYSLUETTELO

1.	JOHDANTO .....	1
2.	ABSORPTIO JA FLUORESENSSISPEKTROSKOPIA .....	2
2.1	Fluoresenssispektroskopia .....	3
2.1.1	Fluoresenssin elinaika .....	5
3.	ISOMEROITUMISEN, AGGREGOITUMISEN JA HALOGEENISIDOKSEN VAIKUTUS ABSORPTIO- JA FLUORESENSSISPEKTRIIN .....	6
3.1	Cis-trans isomeroituminen .....	7
3.2	Aggregoituminen .....	9
3.3	Halogeenisidos .....	14
4.	LANGMUIR- JA LANGMUIR-SCHAEFFER-KALVOT .....	17
4.1	Langmuir-kalvot .....	17
4.2	Langmuir – Blodgett ja Langmuir – Schaeffer - kalvot .....	18
4.3	Brewsterin kulma -mikroskooppi .....	20
5.	MITTAUSTEN SUORITUS .....	23
5.1	Näytteiden valmistus .....	24
5.2	Siirtosuhde .....	25
5.3	BAM .....	26
5.4	Absorptio- ja fluoresenssispektrien mittaaminen .....	26
5.5	SEM .....	27
6.	MITTAUSTULOKSET .....	28
6.1	Kalvojen valmistuksen optimointi .....	28
6.1.1	Isotermi ja BAM .....	28
6.1.2	Näytteen valmistuksen vaikutus .....	30
6.1.3	Kerros määrän vaikutus absorbanssiin .....	33
6.2	Käyttäytyminen ajan funktiona .....	34
6.2.1	Muutokset absorptiospektrissä .....	35
6.3	Muutokset fluoresenssispektreissä .....	38
6.4	Fluoresenssin elinaika ja jakautuminen .....	40
6.5	Säilytyslämpötilan vaikutus .....	42
7.	YHTEENVETO .....	46
	LÄHTEET .....	48

## LYHENTEET JA MERKINNÄT

BAM	Brewsterin kulmamikroskooppi
FLM	engl. fluorescence life-time microscope, elinaikaeroteinen fluoresenssimikroskooppi
HB	vetysidos
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
I4FS	jodotetrafluorostilbeenijohdannainen eli tutkittava aine
L-kalvo	Langmuir-kalvo
LB-kalvo	Langmuir-Blodgettikalvo
LS-kalvo	Langmuir-Schaeffer-kalvo
MMA	engl. mean molecular area, pinta-ala per molekyyli
SEM	engl. scanning electron microscope, pyyhkäisyelektronimikroskooppi
TCSPC	engl. time-correlated single photon counting, aikaerotteinen yksittäisfotonilaskenta
TTY	Tampereen teknillinen yliopisto
UV-VIS	ultraviolett- ja näkyvävalo
XB	halogeeni-sidos
$a_i(\lambda)$	pre-eksponentiaalikerroin aallonpituudella $\lambda$
$A$	molekyylin perustila
$A^*$	molekyylin virittynyt tila
$A_s$	kasvatusalustan pinta-ala
$br_i$	puomin paikka ennen kastoa,
$br_f$	puomin paikka kaston jälkeen
$c$	konsentraatio
$dA$	pinta-alan muutos kasvatuksen aikana
$E'$	dimeerin viritystila
$G$	Gibbsin vapaaenergia
$h$	Plankin vakio
$h\nu$	absorboituneen fotonin energia
$I$	intensiteetti
$I_0$	alkuperäinen intensiteetti
$I_t$	intensiteetti ajan hetkellä $t$
$k_f$	fluoresoivan siirtymän nopeusvakio
$k_{ic}$	sisäsiirtymän nopeusvakio
$k_{ic}^S$	systemien välisen siirtymän nopeusvakio
$l$	näytteessä kuljettu matka
$n$	taitekerroin
$s$	pinta-ala
$S_i$	singlettitila
$T$	transmittanssi
$T_i$	triplettitila $i$
TR	engl. transfer ratio, siirtosuhde
$\nu$	taajuus
Å	ångström, $1 \times 10^{-10}$ m

$\gamma$	pintajännitys
$\varepsilon$	näytteen absorptiokerroin
$\lambda_{\text{ex}}$	viritysaallonpituus
$\lambda_{\text{ex}}$	viritysaallonpituus
$\Pi$	pintapaine
$\tau_{\text{f}}$	fluoresenssin elinaika
$\emptyset$	fluoresenssin suhteellinen tehokkuus

# 1. JOHDANTO

Modernin teknologian kehittyessä kiinnostus molekulaarisesti muuttuviin rakenteisiin on kasvanut. Kiinnostus johtuu laajoista käyttömahdollisuuksista monien sovellusten tarvitsemassa tiedon käsittely- ja varastointisovelluksissa, joissa voidaan hyödyntää optoelektroniikkaa, holografisia materiaaleja ja monivärinäyttöjä. Näissä sovelluksissa voidaan hyödyntää molekulaarisia kytkimiä (molecular switches). Ne ovat molekulaarisia tai supramolekulaarisia osia, jotka voivat reversiibelisti vaihtaa tilaansa vähintään kahden eri tilan välillä. Valoon reagoivat materiaalit ovat kiinnostavia siksi, että niihin voidaan vaikuttaa valon avulla koskematta materiaaliin, jolloin operointi voidaan tehdä puhtaasti, nopeasti ja etäältä. [1]

Muutokset molekyylin ominaisuuksissa voivat johtua useista erilaisista ilmiöistä, kuten cis-trans isomeriasta, aggregoitumisesta tai molekyyliden välisistä sidoksista. Cis-trans isomeriassa molekyyli voi olla kahdessa eri muodossa ja vaihtaa muotoaan reversiibelisti valon ja/tai lämmön vaikutuksesta. Cis- ja trans-muodoilla on erilaiset spektroskopiset ominaisuudet ja muutos voidaan havaita niiden perusteella. [2] Aggregoitumista tapahtuu molekyyliden välillä useilla eri tavoilla, mutta aggregaatin muodostuminen näkyy muutoksena absorptiospektrissä. [3] Halogeenisidos voi muodostua kahden erilaisen tai samanlaisen molekyylin välille. Halogeenisidos on hyvin vetysidoksen kaltainen ja sen donorina toimii halogeeni. [4]

Tässä työssä tutkitaan stilbeenijohdannaisia ja pyritään selvittämään, voiko siitä valmistaa Langmuir-Schaeffer-kalvoja (LS) seostamatta sitä muilla molekyyleillä. Lisäksi pyrittiin selvittämään valmistus- ja säilytysolosuhteiden vaikutusta kalvon ominaisuuksiin. LS-kalvoja altistettiin erilaisille lämpötiloille ja valon aallonpituuksille ja näiden aiheuttamia muutoksia tutkittiin absorptio- ja fluoresenssispektrien avulla. Kalvon valmistuksen aikaisia muutoksia seurattiin Brewsterin kulma-mikroskoopilla. LS-kalvoja päädyttiin käyttämään, jotta saataisiin selville, voiko stilbeenijohdannainen muodostaa halogeenisidoksen ja sen lisäksi isomeroitua. Halogeenisidosta ei saatu todisteita näissä tutkimuksissa.

Tutkittavana olevaa yhdistettä tutkittiin pääosin Langmuir- ja Langmuir-Schaeffer-kalvoina spektroskopisin menetelmin, joista eniten UV-VIS ja fluoresenssispektroskopialla. Tämän työn luvuissa 2 ja 3 tarkastellaan yhdisteeseen ja tutkimusmenetelmiin liittyvää teoriaa ja ilmiöitä ja luvussa 4 kerrotaan Langmuir- ja Langmuir-Schaeffer-kalvoista, joiden valmistaminen oli oleellinen osa stilbeenijohdannaisen tutkimista. Käytettyjä tutkimusmenetelmiä ja -laitteistoja käsitellään luvussa 5 ja näiden avulla havaittuja muutoksia mittaustuloksissa luvussa 6.



## 2. ABSORPTIO JA FLUORESENSISPEKTROSKOPIA

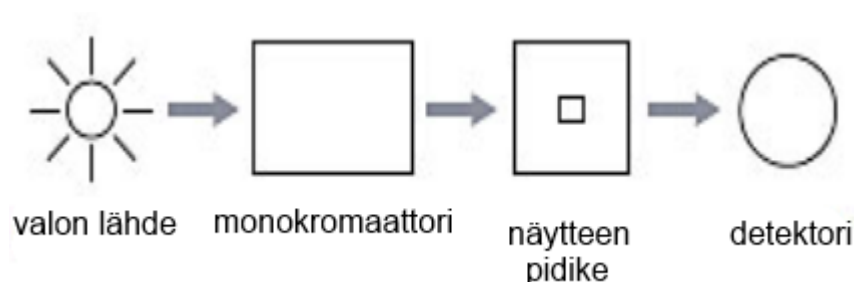
Valo koostuu sähkömagneettisista aalloista. Sähkömagneettinen säteily voi muuttaa molekyylin tilaa ja vaikuttaa sen reaktioihin vain, jos molekyyli absorboi säteilyä. UV-VIS spektroskopia hyödyntää UV- ja näkyvän valon aallonpituuksia eli aallonpituuksia noin välillä 200–800 nm. Kun näytettä säteilytetään UV- tai näkyvällä valolla, voidaan saada tietoa aineen elektroneista. Valon absorptio liittyy kvanttimekaniikkaan, jonka atomimallin mukaan elektroneilla on erilaisia energiatiloja. Elektronit voidaan virittää perustilaansa korkeammalle energiatasolle säteilyn avulla eli valon absorboituessa elektroni virittyy.



Yhtälössä 1  $A$  on molekyylin  $A$  perustila ja  $A^*$  on saman molekyylin virittynyt tila ja  $h\nu$  absorboituneen fotonin energia, jossa  $h$  on Planckin vakio ja  $\nu$  taajuus. Virittynyt tila kestää hyvin lyhyen aikaa ja vain pieni osa molekyyleistä virittyy käytettäessä tavantomaisia säteilynlähteitä. Säteilyn kvantin energian on oltava samansuuruinen kuin energian, joka vaaditaan elektronin siirtymiseen alemmalla energialta tilalta korkeammalle energiatilalle eli molekyyliorbitaalille [5]. Absorptiospektri kuvaa absorptioasteita eri aallonpituuksilla. [6; 7]

Molekyylien kaksois- tai kolmoissidosten konjugoituminen siirtää absorptiospekttriä pidemmille aallonpituuksille ja suurentaa absorbanssia. Tällöin alkuaan väritön aine voi konjugoituneena olla värillinen. [5] Sama toimii myös käänteisesti, jos konjugoituneisuus katkeaa, aine voi menettää värinsä.

Absorptiospektrofotometri koostuu yksinkertaistetusti neljästä osasta, jotka on esitetty Kuva 1: valon lähteestä, monokromaattorista, näytteen pidikkeestä ja detektorista.



**Kuva 1.** Absorptiospektrofotometrin periaate. [6]

Valon lähteenä käytetään halogeeni- tai deuteriumlamppua. Valkoinen valo voidaan hajottaa eri aallonpituuksiin prisman tai hilan avulla diffraktio-ilmiötä hyödyntäen. Valo ohjataan monokromaattorina toimivan prisman tai hilan läpi, jolloin valo hajotetaan eri aallonpituuksiksi. Halutun aallonpituinen valon säde ohjataan näytteen läpi ja läpimennyt detektorin mittaamaa intensiteettiä  $I$  verrataan alkuperäiseen valon intensiteettiin  $I_0$ . Absorptiospektrofotometri skannaa näytteen aallonpituus kerrallaan toivotulla aallonpituusvälillä UV valon aallonpituuksilla 200 – 400 nm ja näkyvän valon aallonpituuksilla 400-800 nm.

Absorptio voidaan ilmoittaa transmittanssina

$$T=I/I_0 \quad (3)$$

tai absorbanssina

$$A=\log I_0/I=\log I_0/I. \quad (4)$$

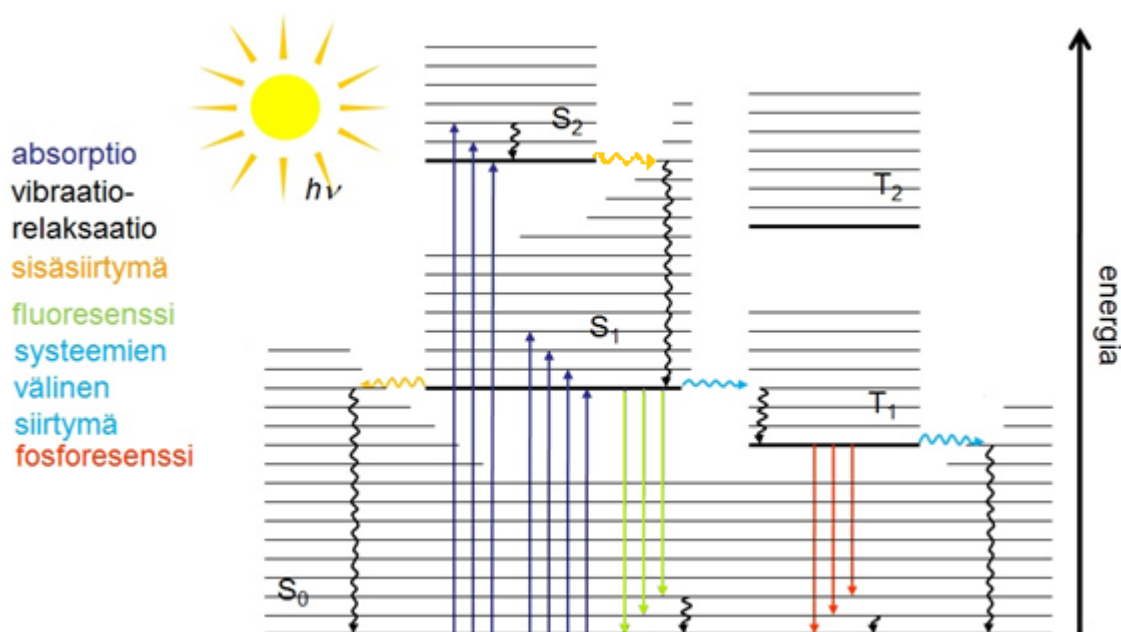
Jos absorptiota ei esiinny eli  $I=I_0$  niin  $T=1$  ja  $A=0$ . Transmittanssia käytetään yleensä kiinteille näytteille ja absorbanssia liuoksille. Liuoksilla myös liuoksen konsentraatio  $c$  vaikuttaa absorbanssiin Lambert-Beerin lain mukaan seuraavasti

$$A = \epsilon cl \quad (5)$$

jossa  $\epsilon$  on näytteen absorptiokerroin,  $c$  näytteen konsentraatio ja  $l$  on näytteessä kuljettu matka eli esimerkiksi kyvetin paksuus. [5; 6]

## 2.1 Fluoresenssispektroskopia

Luminesenssi on valon säteilyä mistä hyvänsä aineesta ja se johtuu elektronien virittyneestä tilasta. Luminesenssi voidaan jakaa fluoresenssiin ja fosforesenssiin. Fluoresenssissa emissio tapahtuu virittyneeltä singlettitalalta ja fosforesenssissa triplettitalalta. Tämä ero ei kuitenkaan aina ole selvä. Ilmiö perustuu kromoforiin eli molekyyliin, jonka yhden tai useamman atomin osassa tapahtuu elektronin siirto ja jolle mitattu spektrikaista voidaan yhdistää. Fosforesenssissa valon emissio on hidas,  $10^3 - 10^0 \text{ s}^{-1}$  ja elinaika millisekunneista sekunteihin. Pimeässä loistavissa tavaroissa kuten kelloissa ja leluissa elinaika voi olla jopa minuutteja. Fluoresenssi on yleistä aromaattisilla yhdisteillä [8] ja sen emissio kestää  $10^8 \text{ s}^{-1}$  ja elinaika on 10 ns. [2 ss. 17-20]



**Kuva 2.** Jablonskin diagrammi. Suorat nuolet ovat säteileviä siirtymiä ja aaltoilevat nuolet säteilemättömiä siirtymiä.

Jablonskin diagrammin käytetään kuvaamaan molekyyli-tiloja ja valokemiallisia ja valofysikaalisia reaktioita. Molekyylin elektronitiloja Jablonskin diagrammissa kuvaavat paksummat vaakasuorat viivat ja ne on myös nimetty spinnikerrannaisuuden mukaan singlettitiloiksi  $S_i$  (kerrannaisuus on 1) tai triplettitiloiksi  $T_i$  (kerrannaisuus on 3). Ohuemmat vaakasuorat viivat kuvaavat vibraatiotiloja. [8] Säteilevät siirtymät ovat fotonin absorptio ja emissio ja ne on merkitty suorilla nuolilla. Säteilemättömät siirtymät on merkitty aaltoilevilla nuolilla. Sisäsiirtymä on säteilemätön siirtymä kahden samanenergisien vibraatiotilan välillä, jossa kerrannaisuus säilyy. Systeemien välinen siirtymä on myös säteilemätön, mutta kerrannaisuus ei säily. [2 ss. 26-27]

Fotonin absorptio tapahtuu noin  $10^{-15}$  sekunnissa. Virittyessään molekyyli siirtyy perustilalta  $S_0$  jollekin viritystilalle  $S_i$ ,  $i > 0$ . Korkeammat viritystilat deaktivoituvat nopeasti vibraatiorelaksaatiolla ja sisäisellä siirtymällä ensimmäisen viritystilan  $S_1$  alimmalle vibraatiotasolle. Tältä tilalta virityksen purkautumiselle on enemmän vaihtoehtoja, kuten säteilemätön deaktivaatio vibraatiorelaksaatiolla, fluoresenssi ja systeemien välinen siirtymä triplettitilalle. Triplettitilalta relaksaatio tapahtuu fosforesenssin tai vibraatiorelaksaation kautta. [2 ss. 17-19]

### 2.1.1 Fluoresenssin elinaika

Virittyneen tilan elinaika määritellään keskimääräiseksi ajaksi, jonka molekyyli viettää virittyneessä tilassa ennen paluuta perustilalle ja se on kääntäen verrannollinen virittyneestä tilasta pois vievien siirtymien nopeusvakioiden summaan;

$$\tau_f = \frac{1}{k_f + k_{ic} + k_{isc}^S}, \quad (6)$$

missä,  $\tau_f$  on fluoresenssin elinaika (s),  $k_f$  on fluoresoivan siirtymän nopeusvakio,  $k_{ic}$  on sisäsiirtymän nopeusvakio ja  $k_{isc}^S$  on systeemien välisen siirtymän nopeusvakio. Käytännössä fluoresenssin intensiteetin aikariippuvuus noudattaa eksponentiaalista jakaumaa ja sen elinaika voidaan laskea yhtälöllä:

$$I(t) = I_0 e^{-(k_f + k_{ic} + k_{isc}^S)t} = I_0 e^{-t/\tau}, \quad (7)$$

missä  $t$  on aika (s).

Elinaikaerotteinen fluoresenssimikroskooppi eli FLM (fluorescence lifetime microscope) mittaa fluoresenssin intensiteettiä ja vaimenemista paikan funktiona. Tarkemmin FLM:stä kerrotaan esimerkiksi Kaisa Rautaniemen diplomityössä [9].

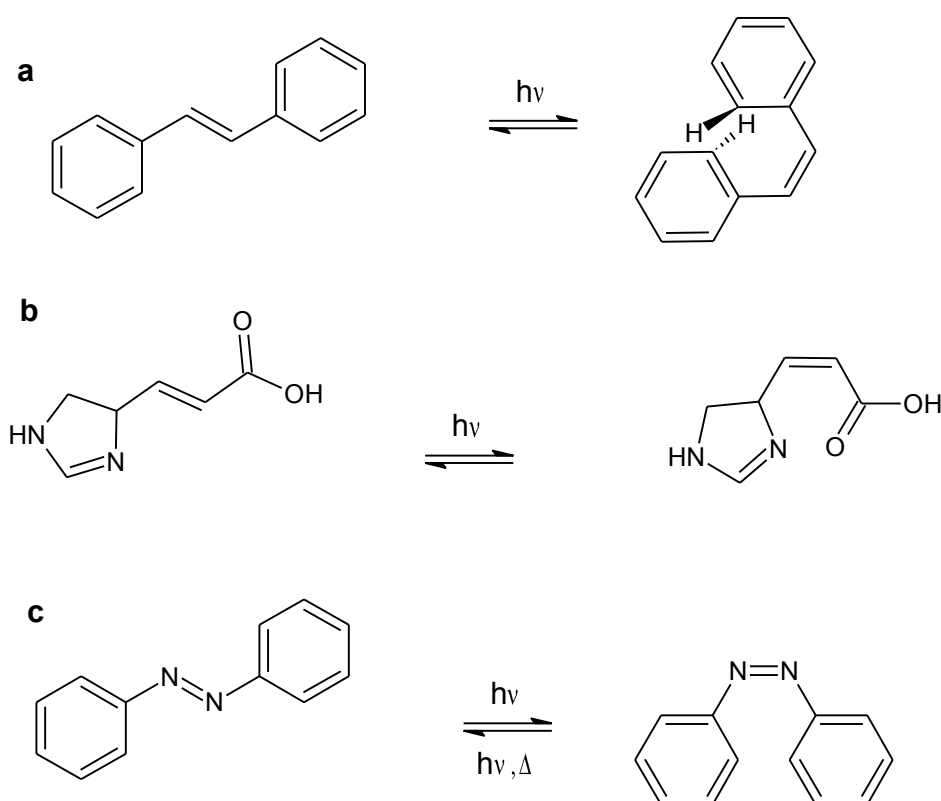
### **3. ISOMEROITUMISEN, AGGREGOITUMISEN JA HALOGEENISIDOKSEN VAIKUTUS ABSORPTIO- JA FLUORESENSSISPEKTRIIN**

Valon vaikutuksesta kahden muodon välillä yhteen tai molempiin suuntiin tapahtuvia reversiibleitä muutoksia kutsutaan fotokromismiksi. Näillä muodoilla on erilaiset absorptiospektrit ja muut fysikaaliset ominaisuudet, kuten pelkistyspotentiaali, fluoresenssin intensiteetti, happo/emäs vahvuus, dielektrinen vakio, dipolimomentti ja molekulaarinen muoto. [10 s. 346] IUPAC määrittelee fotokromismin valon aiheuttamaksi reversiibeliksi värin vaihtumiseksi [11]. Fotokromismia esiintyy useilla orgaanisilla molekyyleillä, kuten atsobentseeneillä, stilbeeneillä ja spiropyraaneilla (spiropyranes). Fotokromismia voidaan hyödyntää tunnistamaan tutkittavan yhdisteen eri muodot, koska erilaiset absorptio- ja fluoresenssispektrit voidaan mitata.

Molekyylin sisäisten cis/trans-muutosten lisäksi voi esiintyä molekyyliden muodostamia aggregaatteja, kun jodotetrafluorostilbeenijohdannaisesta valmistetaan Langmuir- tai Langmuir-Schaeffer-kalvoja eli L- ja LS-kalvoilla. Kyseinen stilbeenijohdannainen voi muodostaa halogeenisidoksen viereisten molekyyliden kanssa typen ja jodin välille, jolloin molekyyliden välillä on heikkoa vuorovaikutusta ja järjestäytymistä.

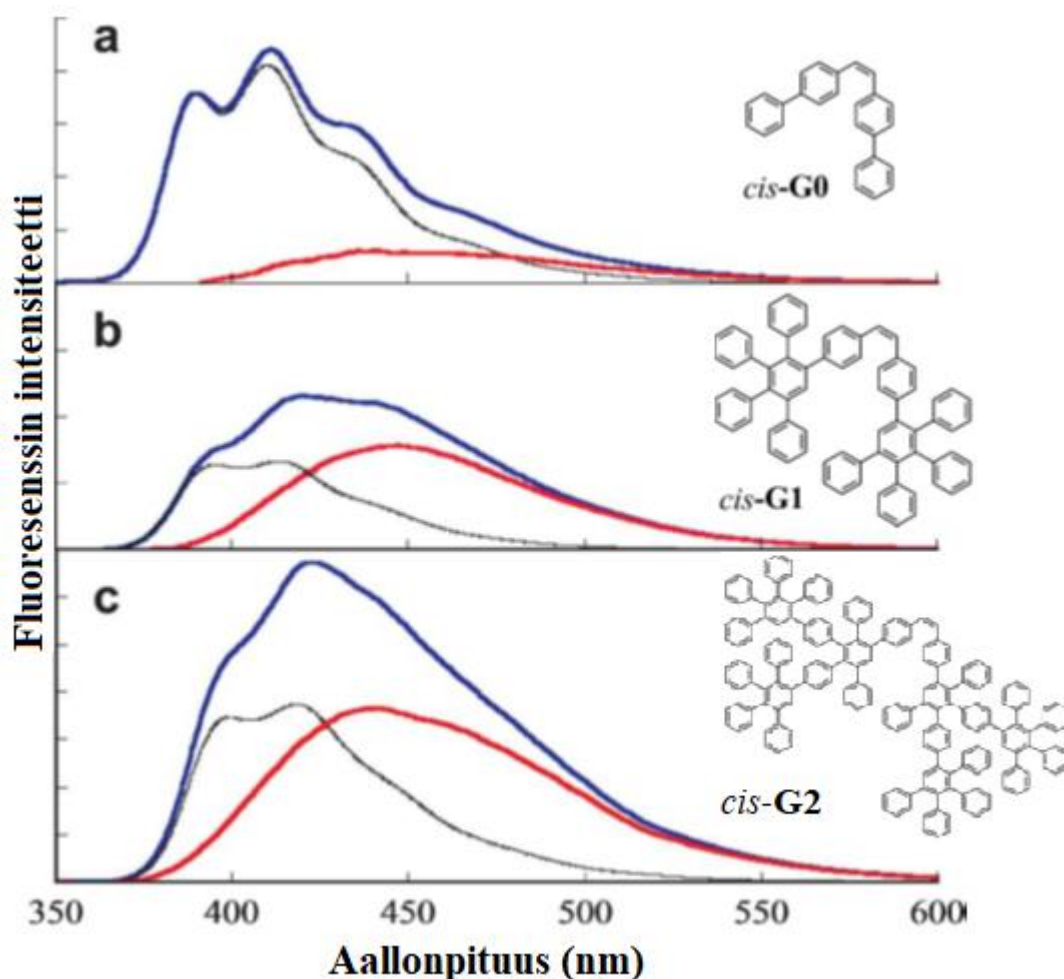
### 3.1 Cis-trans isomeroituminen

Cis-trans isomeraatiossa olefiinien hiili-hiili kaksoissidoksessa tapahtuu  $180^\circ$  rotaatio. Rotaatio ei tapahdu itsestään vaan vaatii energiaa tapahtuakseen. Olefiinien reversiibeli fotoisomeraatio tapahtuu joko alimmalta virittyneeltä singlettitilalta tai triplettitilalta. Trans-konfiguraatio on yleensä termodynaamisesti stabiilimpi, jolloin fotoisomeraatiossa trans-muoto muuttuu cis-muotoon. Cis-trans-isomeroituminen vaikuttaa molekyylin spektroskopiin ominaisuuksiin ja fotoisomeraatio voidaan todentaa spektrin muutoksesta tai näkyvän valon aallonpituuksilla myös värinmuutoksesta. [2 s. 64] Palautuminen takaisin trans-muotoon tapahtuu joko valon tai lämmön vaikutuksesta. Kuvassa 3 esitetään olefiinien lisäksi cis-trans isomeraatio, jossa rotaatio tapahtuu typen kaksoissidoksen ympäri.



**Kuva 3.** Kolme molekyyliä, joilla esiintyy sekä trans-muoto (vasemmalla) että cis-muoto (oikealla). a) stilbeeni, b) urokaanihappo ja c) on atsobentseeni. [2]

Isomeroitumisen aiheuttamat muutokset näkyvät myös fluoresenssispektrissä. Stilbeeni- en fluoresenssia ovat tutkineet Mami Tabuchi et al. [12]. He tutkivat kolmen erilaisen stilbeenin fluoresenssispektrejä ja elinaikoja. Kuva 4 on esitetty tutkimuksessa selvinneet fluoresenssispektrit, joista käy ilmi cis- ja trans-muotojen erot.

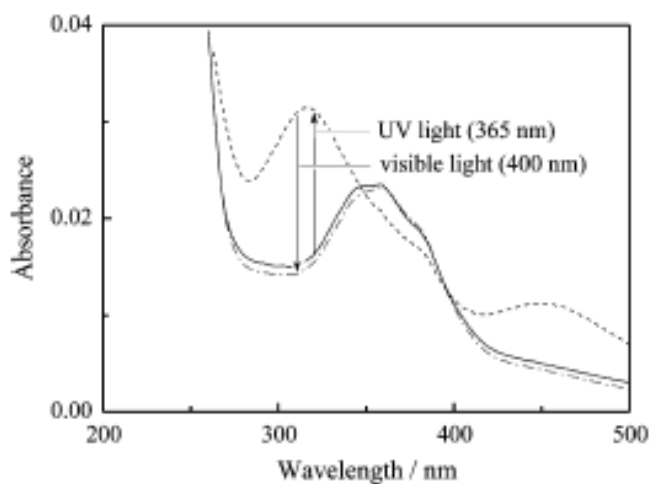


**Kuva 4.** Fluoresenssispektrit kolmelle dendrimeeriyhdisteelle, joiden rakennekaavat on esitetty spektrien vieressä, cis-G0 (a), cis-G1 (b) ja cis-G2 (c). Sininen kuvaaja on mitattu bentseenissä huoneenlämmössä, punainen kuvaaja on puhtaasta cis-isomeeristä mitattu fluoresenssispektri ja musta kuvaaja on vastaavan trans-isomeerin kuvaaja. Muokattu lähteestä [12].

Tutkimuksessaan Tabuchi et al. mittasivat Kuva 4 yhdisteille myös fluoresenssin elinaikaa. Bentseeniliuoksessa cis-G2:lle saatiin kaksi elinaikaa, 0,77 ns ja 1,6 ns. Näistä lyhyempi voi merkitä trans-G2 läsnäoloa, koska puhtaan trans-G2 fluoresenssin elinajaksi mitattiin 0,75 ns. Tällöin cis-isomeerin elinaika on 1,6 ns eli pidempi kuin trans-muodolla.

Isomeroitumista havaitaan myös LB-kalvoilla. [13; 12; 14] Takahashi et al. [15] havaitsivat reversiibeliä cis-trans-isomeriaa, kun atsobentseenijohdannaisesta valmistettua

LB-kalvoa altistettiin vuoroin UV-valolle ja näkyvälle valolle ja ilmiö esiintyi jopa metyylistearaatilla seostetuilla LB-kalvoilla. Tällöin UV-Vis spektrissä (Kuva 5), havaitaan selvä muutos 365 nm UV-valolle altistus aiheuttaa spektrin maksimin siirtymisen 350 nm kohdalta (trans-muoto) 320 nm kohdalle (cis-muoto) ja näkyvälle valolle altistaminen palauttaa spektrin takaisin alkuperäiseen muotoonsa.



**Kuva 5.** Reversiibeli UV-valon ja näkyvän valon aiheuttama muutos atsobentseenikromoforin LB-kalvon absorptiospektrissä. (---) alkuperäinen spektri, (- - -) spektri UV-valolle altistuksen jälkeen ja (- · -) spektri näkyvälle valolle altistuksen jälkeen.[15]

Samassa tutkimuksessa havaittiin, että lämpötilariippuvaisen cis-trans isomeraation reaktionopeus riippuu voimakkaasti kalvon pakkautumisesta (packing state), joka kuvastaa atsobentseenikromoforin mooliosuuden vaikutusta isomeraation steerisiin esteisiin LB-kalvolla. Lisäksi vapaan tilavuuden pienentyessä kromoforin ympärillä, cis-trans isomeroitumisen aktivoitumisenergia kasvaa. [15]

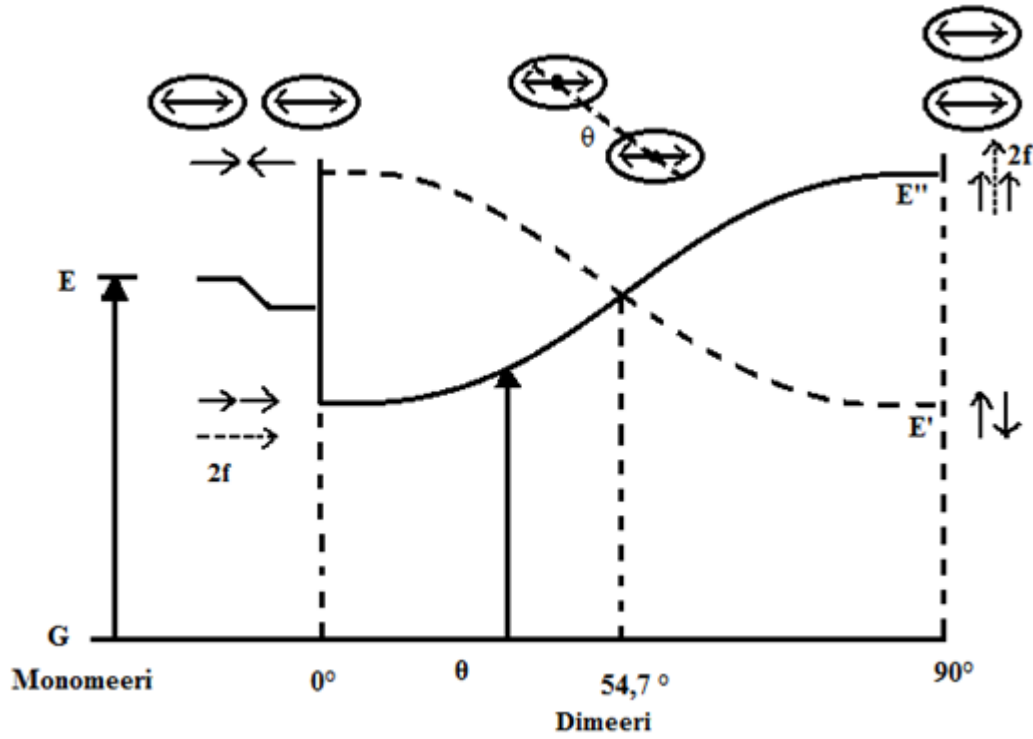
## 3.2 Aggregoituminen

Kasha, Rawls ja Ashraf El-Bayoumi [3] ovat soveltaneet eksitoni-mallia molekulaarissa spektroskopiassa. Heidän tutkimuksensa käsittelee muun muassa aggregoitumisen vaikutusta aineen absorptiospektriin. Eksitoni teoriaa on käsitelty monomeerien, dimeerien ja trimeerien osalta, mutta saatuja tuloksia voidaan soveltaa myös suurempiin molekyyliaggregaatteihin, joita esiintyy tässä diplomityössä tutkituilla LS-kalvoilla.

Eksitoniteorian mukaan dimeroitumisen yhteydessä molekyylin elektroniset viritystilat jakautuvat kahdeksi tilaksi, joista toisen energia on alempi ja toisen korkeampi kuin monomeerin viritystilan energia. Tämä jakautuminen johtuu siitä, että molekyylien absorptiodipolimomentit voivat olla toisiinsa nähden joko samansuuntaiset tai vastakkais-



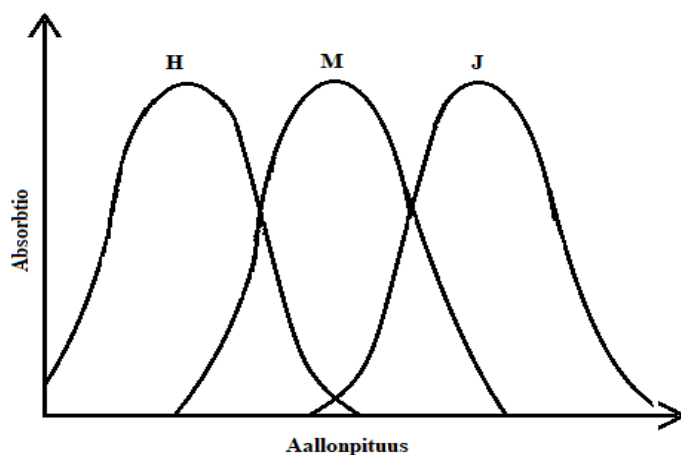
suuntaiset. Dimeerissä molekyylit ja niiden absorptiodipolimomentit voivat olla toisiinsa nähden lukuisissa asennoissa.



**Kuva 6.** Eksitonimallin mukainen energiadiagrammi dimeerille, kun sen muodostavat molekyylit ovat samassa tasossa. Ovaalit kuvaavat molekyyliprofilia ja niiden sisällä olevat kaksipäiset nuolet absorptiodipolimomentteja. Ovaalien alla olevat yksipäiset nuolet kuvaavat kunkin energiatilan dipolimomenttien vektoreita.  $E'$  ja  $E''$  ovat dimeerin viritystilat, joissa yhtenäinen viiva kuvaa sallittua siirtymää ja katkoviiva kiellettyä siirtymää. Vaaka-akselilla oleva asteluku on kahden absorptiodipolimomentin välinen kulma  $\theta$ . Kuvassa esitetty käyrien leikkauspiste  $\theta$ :n arvolla  $54,7^\circ$  on rajakulma, jonka alapuolella alemmalle energiatilalle siirtyminen on sallittua ja dimeeri voi fluoresoida. Kun kulma on yli  $54,7^\circ$ , siirtymä voi tapahtua vain ylemmälle energiatilalle ja fluoresointia ei voi tapahtua. Muokattu lähteestä [3].

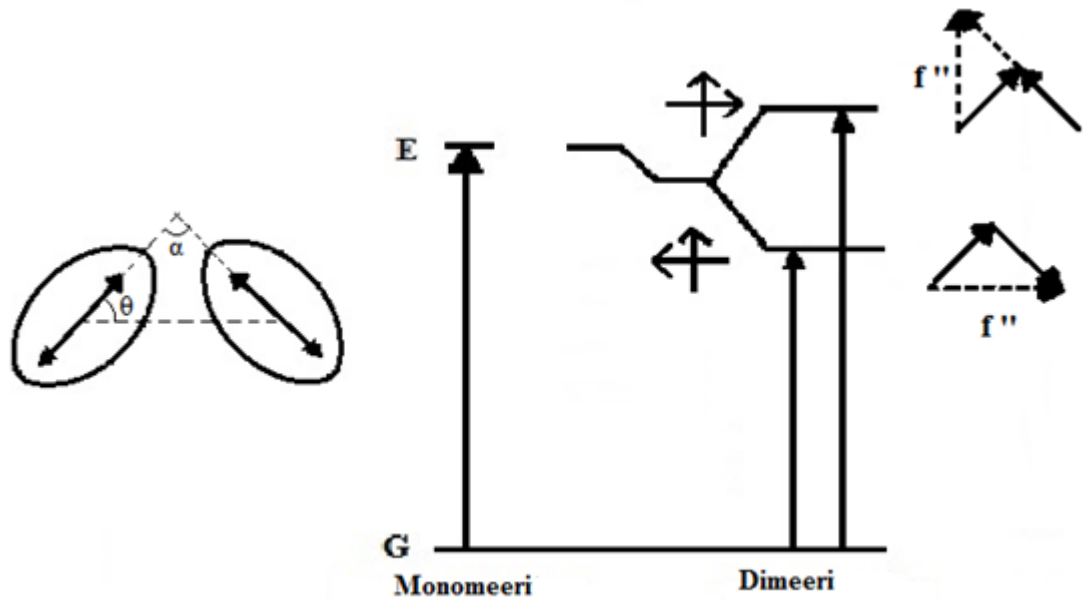
Kuvassa 6 esitetty eksitonimallin mukainen energiadiagrammi kuvaa molekyylien keskinäisen sijainnin vaikutusta elektronien viritystasoihin ja edelleen spektreihin, kun dimeerin muodostavat molekyylit ovat samassa tasossa ja niiden absorptiodipolit ovat yhdensuuntaiset. Vasemman reunan peräkkäiset absorptiodipolimomentit eli J-aggregaatit ja tilanteet, joissa kulma  $\theta$  eli absorptiodipolimomenttien ja molekyylien keskusten kautta kulkevan suoran välinen kulma on  $0-54,7^\circ$ , aiheuttavat spektriin punasiirtymää ja dimeerit voivat fluoresoida. Tämä johtuu siitä, että siirtymä alemmalle

elektroniselle tasolle on sallittu. Oikean reunan vierekkäiset polarisaatioakselit, H-aggregaatit, ja tilanteet joissa  $\theta$  on  $54,7 - 90^\circ$  [16], aiheuttavat puolestaan sinisiirtymää. Nyt siirtymä on sallittu ylemmälle elektroniselle tasolle ja fluoresenssi, joka voisi tapahtua alemmalla elektroniselta tasolta, on kielletty. Vaikka siirtymä perustilalta on mahdollista kummallekin virittyneelle tilalle, dimeerin geometria vaikuttaa siihen mitkä siirtymät on mahdollista havaita. Skemaattiset H- ja J- aggregoitumisen aiheuttamat muutokset absorptiospektriin on esitetty kuvassa 7.

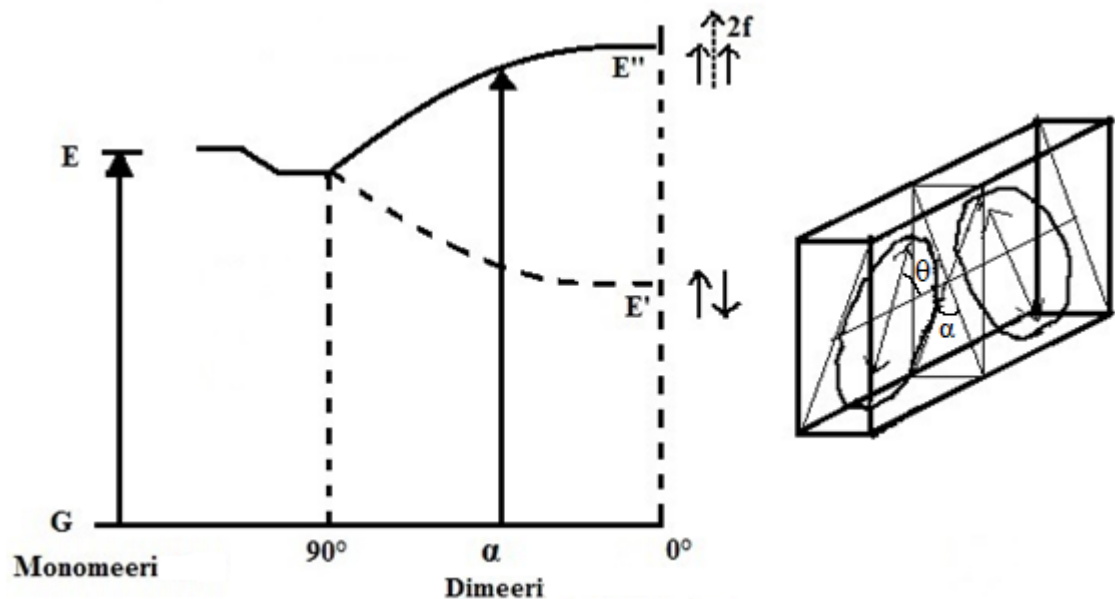


**Kuva 7.** Teoriakuva, jossa monomeerin (M) absorptiospektri on verrattuna H-aggregaatin (H) ja J-aggregaatin (J) aiheuttamiin muutoksiin.

Samassa tasossa olevien molekyylien absorptiodipolimomentit voivat olla kulmassa  $\alpha$  toisiinsa nähden. Tällöin Kuva 8 mukaisesti siirtymä on mahdollinen molemmille tiloille  $f''$  ja  $f'''$ .



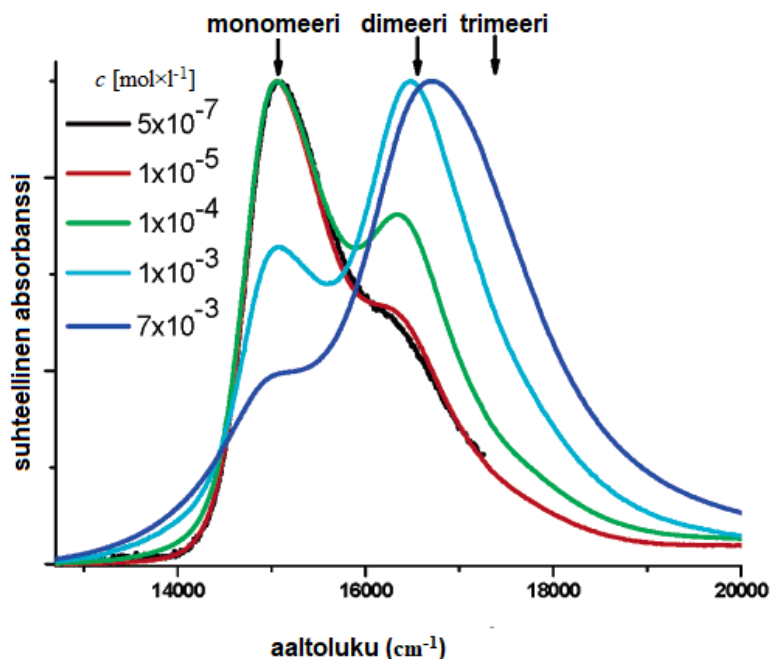
**Kuva 8.** Eksitonimallin mukainen energiadiagrammi dimeereille, kun sen muodostavat molekyylit ovat samassa tasossa ja niiden absorptiodipolimomentit eivät ole yhdensuuntaiset. Kulma  $\alpha$  on absorptiodipolimomenttien välinen kulma ja kulma  $\theta$  molekyylin lävistäjien ja absorptiodipolimomentin välinen kulma. Muokattu lähteestä [3].



**Kuva 9.** Vinot eri tasossa olevat molekyylitasot.  $\alpha$  on molekyylitasojen välinen kulma ja  $\theta$  polarisaatioakselin ja molekyylikeskusten lävistäjän välinen kulma. Muokattu lähteestä [3].

Jos Kuva 9 tilanteessa tasojen välinen kulma  $\alpha$  on nolla, molekyylit ovat samassa tasossa ja tilanne on sama kuin kuvan 6 oikeassa reunassa ja ilmenee sinisiirtymää. Jos  $\alpha$  on nolla ja  $\theta$  on alle  $90^\circ$  tilanne vastaa kuvaa 8.

Heger et al. havaitsivat metyyllisiinisen pitoisuuden muutoksen vaikuttavan myös absorptiospektriin [17]. Kuva 10 x-akselin yksikkönä on aaltoluku, jolloin konsentraation kasvaessa muodostuvat dimeerit ja trimeerit ovat Kuva 7 mukaan H-aggregaatteja. Kuva 10 spektreistä havaitaan kuin konsentraation kasvattaminen lisää dimeerien ja vähentää monomeerien osuutta.



**Kuva 10.** Metyleenisinisen konsentraation vaikutus aggregoitumiseen ja absorptiospektriin. Kuvaan on merkitty myös monomeerin, dimeerin ja trimeerin tyypilliset absorptiomaksimien paikat. [17]

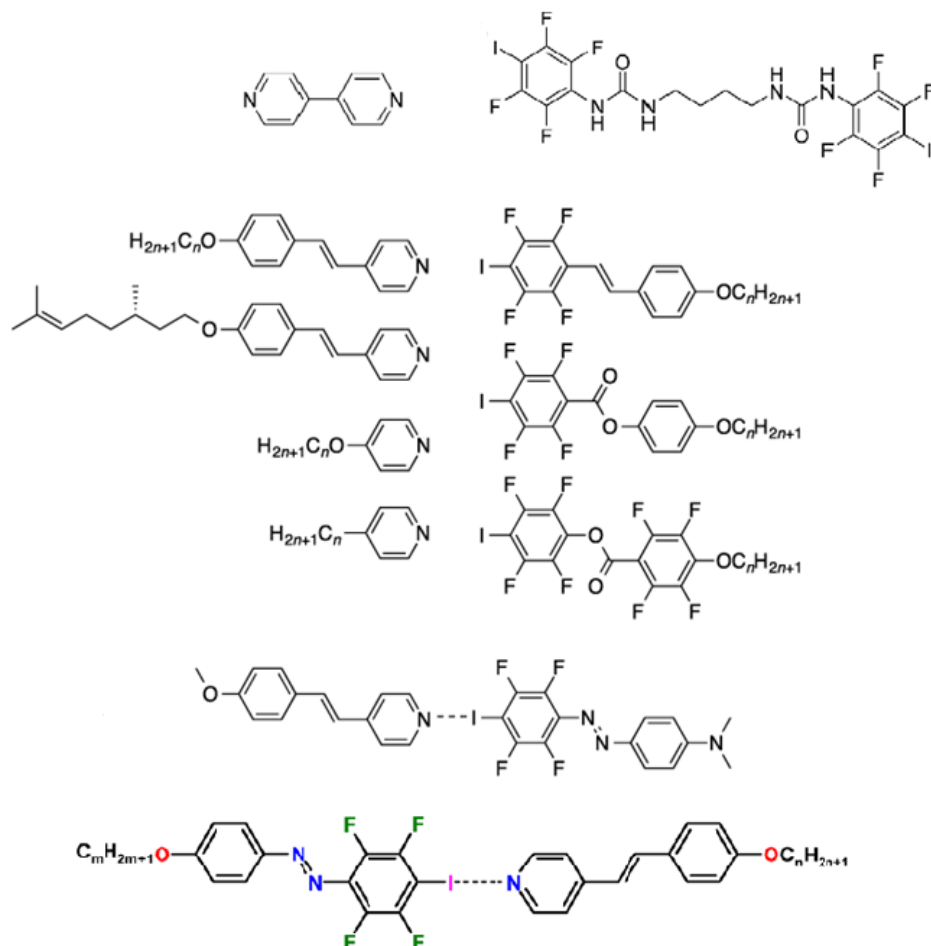
Spooner ja Whitten [18] ovat tutkineet stilbeenyhdisteiden monikerroksisia rakenteita LB-kalvojen avulla. Stilbeenyhdisteitä tutkittiin kalvoina, joissa stilbeenyhdisteen ja arakidihapon seostussuhde oli 1:1. Kalvojen absorptiospektrit olivat siirtyneet pienemmälle aallonpituudelle verrattuna liuosspektreihin. Tämä voidaan tulkita H-aggregoitumiseksi. Kalvoista kuitenkin havaittiin myös fluoresenssia, joka oli siirtynyt suuremmalle aallonpituudelle liuosspektriin verrattuna. Tämä viittaa siihen, että stilbeeni-molekyylien absorptiodipolimomentit aggregaateissa eivät olleet täysin yhden-suuntaisia.

### 3.3 Halogeenisidos

Halogeenisidos (XB) on monilta osin vetysidoksen (HB) kaltainen. Halogeenisidoksessa elektronitiheys pienenee elektronin luovuttavan Lewis-emäksen ja myös amiinin tai pyridyyli N atomin läheltä ja kasvaa kohti positiivista sähköstaattista potentiaalia, joka on Lewis-happona toimivan halogeeniatomin reunamilla. Halogeenisidoksessa molekyylin halogeeni toimii elektrofiilina ja saman molekyylin toinen osa tai toinen molekyyli toimii nukleofiilina. Sidosen energia riippuu vuorovaikuttavista osapuolista ja on suuruudeltaan 10 – 150 kJ/mol [4].

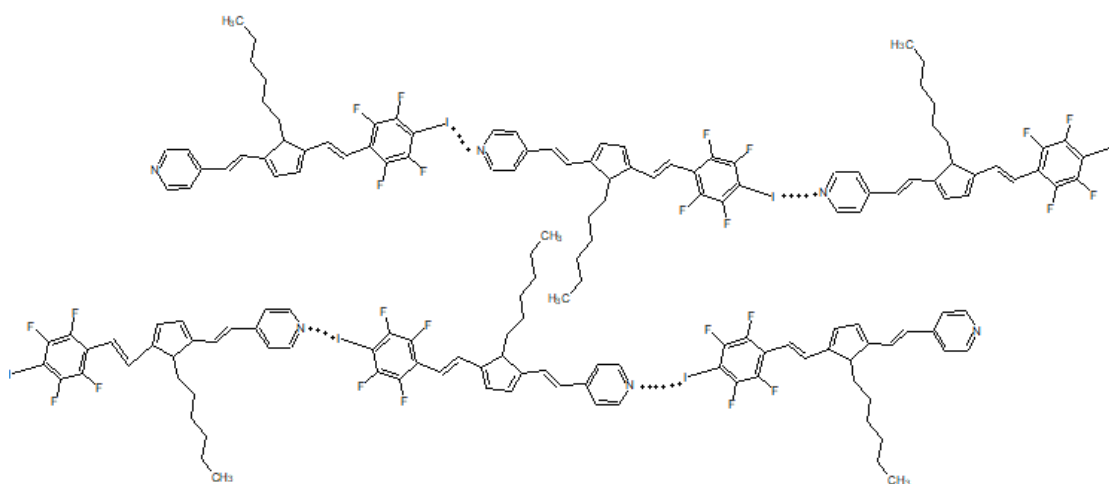
Halogeenisidoksella on neljä ominaisuutta, jotka erottavat sen vetysidoksesta. Nämä neljä ovat hyvä suuntautuvuus, säädettävä voimakkuus, hydrofobisuus ja halogeeniatomin suurempi koko [4;19]. Hyvää suuntautuvuutta on tutkinut H. A. Bent, joka havaitsi, että elektronin luovuttajan ja halogeeniatomin välinen etäisyys on pienempi kuin vastaava van der Waals etäisyys ja atomien sidosten välinen kulma on lähellä 180 ° eli ne ovat lähes suoralla linjalla [20; 21]. Halogeenisidoksen voimakkuuteen vaikuttaa sidoksessa donorina oleva halogeeni, siten että  $I > Br > Cl > F$ . Samassa järjestyksessä on myös halogeenidonoriin kyky syrjäyttää vetysidoksen donori [21]. XB donori on huomattavasti hydrofobisempi kuin HB donori ja tätä ominaisuutta voidaan hyödyntää esimerkiksi lääkeaineiden kuljetuksessa solukalvojen läpi, koska se lisää molekyylin rasvaliukoisuutta ja siten parantaa sen solukalvojen läpäisykykyä.

Halogeenisidos voi muodostua kahden erilaisen molekyylin välille, kuten Kuva 11 tapauksissa, tai halogeenisidoksen akseptori ja donori voivat olla samassa molekyylissä, kuten tässä työssä käytetyssä stilbeenijohdannaisessa I4FS Kuva 12. I4FS muodostaa molekyyliden välisiä XB-sidoksia ja näin muodostuu halogeenisidosten koossa pitämiä pitkiä molekyyliketjuja. Muodostuneen halogeenisidoksen pituus on 2,808 Å ja  $N \cdots I-C$  kulma on 169,16°. Kiinteässä faasissa nämä ketjut asettuvat vierekkäin muodostaen tasomaisia rakenteita [23]



**Kuva 11.** Esimerkkejä molekyyleistä, joiden välille halogeenisidos voi muodostua. Akseptorina on pyridiini ja donorina jodi. Halogeenisidos muodostuu typen ja jodin välille ja osassa molekyylipareja sidosta kuvaa katkoviiva. Molekyylit koottu lähteistä [21; 22]

Kun halogeenisidoksen akseptori ja donori ovat samassa molekyylissä, molekyylit voivat muodostaa ketjut. Kuvassa 12 I4FS muodostaa halogeenisidoksella kaksi ketjua, jotka ovat ryhmittyneet vierekkäin, mutta eripäin.



**Kuva 12.** I4FS muodostaa ketjun halogeenisidoksella(.....). Kuvassa on kaksi eripäin olevaa ketjua vierekkäin.[23]

## 4. LANGMUIR- JA LANGMUIR-SCHAEFFER-KALVOT

### 4.1 Langmuir-kalvot

Langmuir-kalvo eli L-kalvo tarkoittaa kalvoa, joka muodostuu amfifiilisistä molekyyleistä yhden molekyylikerroksen paksuiseksi vesiliuoksen pinnalle. Kerroksessa amfifiilisen molekyylin hydrofiilinen pää on vettä kohti ja hydrofobinen ylöspäin. L-kalvoa valmistettaessa kalvon muodostava aine on liuotettu veteen liukenemattomaan haihtuvaan liuottimeen, kuten heksaaniin tai kloroformiin. Nesteiden pinnalla molekyylien energiatila on erilainen kuin faasien sisällä, mikä johtuu nesteen pinnalla ja pinnan alla olevien molekyylien erilaisesta ympäristöstä. Vesiliuoksen vetysidokset järjestäytyvät verkkomaisesti ja pinnan tuntumassa niiden täytyy mukautua. Rajapinnassa vaikuttaa pintajännitys,  $\gamma$ , jolle käytetään yhtälöä

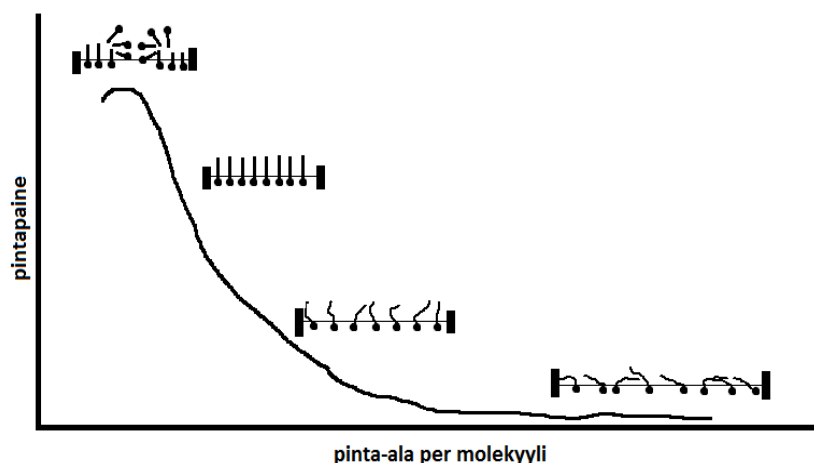
$$\gamma = (\partial G / \partial s)_{T,P,n_i}, \quad (8)$$

jossa  $G$  on Gibbsin vapaaenergia ja  $s$  on pinta-ala, kun lämpötila  $T$ , paine  $P$  ja koostumus  $n_i$  ovat vakioita. Kun pinnalle pipetoidaan liuosta, se leviää alafaasin pinnalle, liotin haihtuu ja molekyylit järjestäytyvät löyhästi ja niiden väliset vuorovaikutukset ovat pieniä ja vaikutus alafaasin pintajännitykseen vähäinen. Kun kalvon pinta-alaa pienennetään, molekyylit alkavat vuorovaikuttaa keskenään. Tätä pinnan reunaa vastaan kohdistuu voimaa, joka vastustaa pinta-alan pienenemistä, kutsutaan pintapaineeksi,  $\Pi$ , ja sille pätee

$$\Pi = \gamma_0 - \gamma, \quad (9)$$

jossa  $\gamma_0$  on puhtaan alafaasin pintajännitys ja  $\gamma$  pintajännitys, kun yksikerroskalvo on alafaasin pinnalla. [25]





**Kuva 13.** Pintapaineen ja pinta-alan vaikutus molekyylien asemaan.

Molekyylit ovat aluksi pinnalla väljästi ja hydrofobinen häntä pinnan lähellä. Kun pinta-alaa pienennetään molekyylien välillä alkaa vaikuttaa hylkiviä voimia, molekyylit järjestäytyvät ja hydrofobinen häntä nousee pystyyn. Jos pinta-alan pienentämistä jatketaan, tapahtuu lopulta kollapsi eli molekyylit nousevat irti pinnasta ja alkavat muodostaa päällekkäisiä molekyylikerroksia, samalla pintapaine putoaa.[25]

Yksikerroskalvolle määritetään yleensä pintapaine keskimääräisen pinta-alan molekyyliä kohti funktiona. Pinta-ala per molekyyli lyhennetään MMA:ksi (mean molecular area). Tästä Kuva 13 esitetystä pinta-paine/ pinta-ala-isotermistä puhutaan yleensä vain isoterminä.

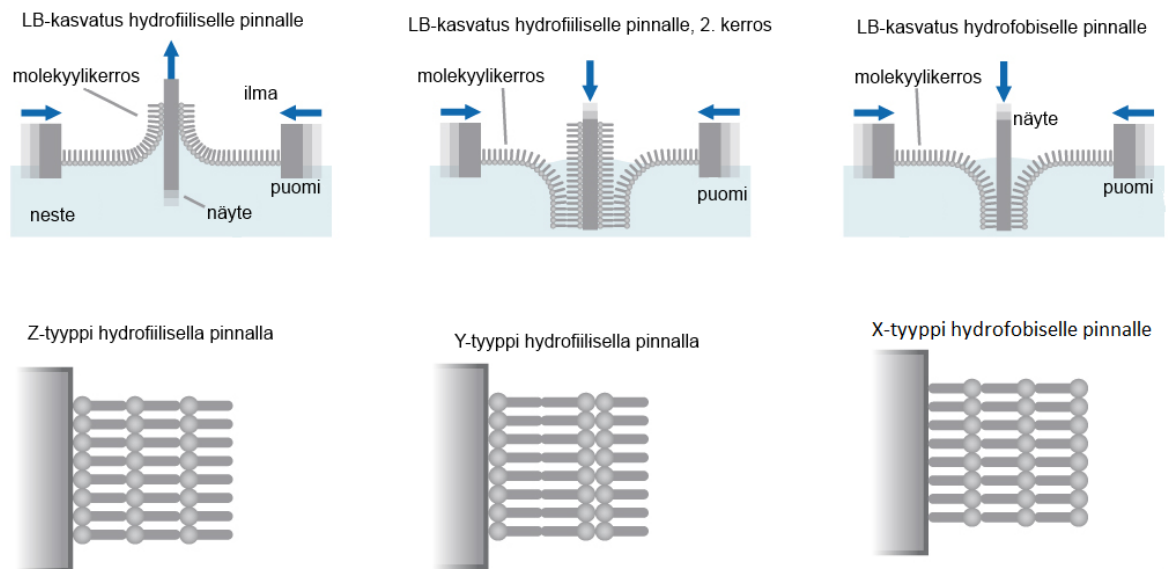
## 4.2 Langmuir – Blodgett ja Langmuir – Schaeffer – kalvot

Langmuir—Blodgett- kalvoilla eli LB-kalvoilla tarkoitetaan molekyylikalvoja, jotka on siirretty nesteen pinnalta kiinteälle alustalle. Kelluvan yksikerroksisen molekyylikalvon eli Langmuir-kalvon (L-kalvo) pintapaine pidetään vakiona ja läpi viedään kiinteä substraatti, jolloin syntyy LB-kalvo, jonka paksuus on yksi tai useita molekyylikerroksia, riippuen läpivientien määrästä. Kalvoja on kokeiltu erilaisiin kaupallisiin sovelluksiin, kuten heijastamattomiin pintoihin, epälineaarisiin optisiin sovelluksiin ja pehmeiksi röntgenmonokromaattoreiksi (soft x-ray monochromators). LB-kalvot ovat kuitenkin olleet liian heikkoja kulutustuotteiksi. [26]

Tutkimuksen työkaluiksi LB-kalvot soveltuvat hyvin, kun tutkitaan amfifiilisten molekyylien perusvuorovaikutuksia tai kemiallisia reaktioita (erityisesti varauksen siirtoreaktiot) pienillä alueilla. LB-kalvot soveltuvat malleiksi myös uusien tutkimusmenetelmien kalibrointiin ja käytettävyyden arviointiin ja biologisten membraanien rakenteen sekä lipidien ja proteiinien aktiivisuuden tutkimisessa kontrolloiduissa olosuhteissa. [26]

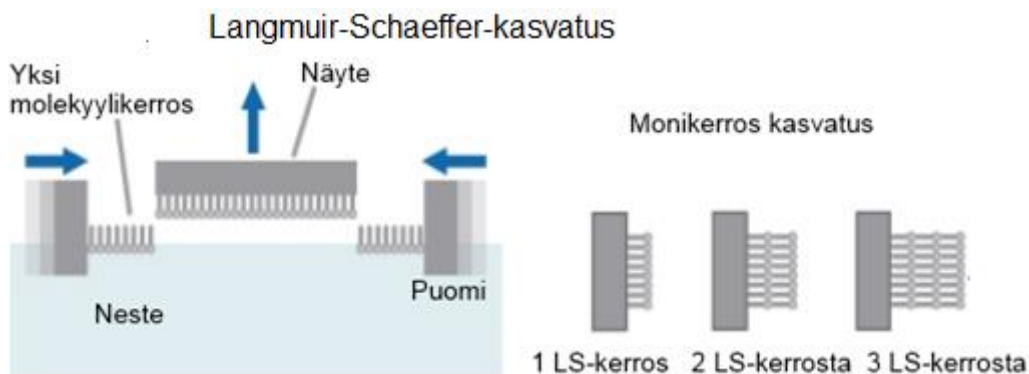
LB-kalvojen valmistamisen perustana on amfifiilisten molekyylien luontainen taipumus järjestäytyä yhden tai useamman kerroksen rakenteissa. Amfifiilisella molekyylillä tarkoitetaan molekyyliä, jonka yksi osa on vesihakuinen eli hydrofiilinen ja muut osat vesipakoisia eli hydrofobisia. Amfifiilinen molekyyli voi olla esimerkiksi pitkäketjuinen rasvahappo tai alkoholi, jolloin sen hydrofiilinen osa on yleensä  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_3^+$  tai  $-\text{PO}_4^-(\text{CH}_2)_2\text{NH}_3^+$  ja hydrofobinen osa on hiili- tai fluorihiiiketju. Roberts LB-kalvoa tehdessä voidaan vaikuttaa siihen kummin päin molekyylikerrokset ovat substraatin päällä ja tarttuvatko ne siihen ylipäätään. [26]

LB-kalvoja voidaan kasvattaa sekä hydrofobisille että hydrofiilisille pinnolle, mutta ominaisuus on huomioitava läpivientisuuntaa suunniteltaessa. Kuva 14 on esitetty, kuinka hydrofiilisyys vaikuttaa läpivientisuuntaan. Läpivientisuuntaa muuttamalla voidaan vaikuttaa myös pinnalle kasvatettavien molekyylikerrosten suuntautumiseen. Eri vaihtoehtoja on esitetty Kuva 14.



**Kuva 14.** LB-kalvon valmistus hydrofiiliselle tai hydrofobiselle pinnalle ja sen vaikutus kerrosten rakenteeseen. Muokattu lähteestä [24].

Langmuir-Schaeffer kalvot (LS-kalvot) valmistetaan LB-kalvon tavoin, mutta substraatti koskettaa nesteen pintaa vaakatasossa eikä sitä viedä pinnan läpi. Näin kalvo tarttuu vain substraatin yhdelle pinnalle. LS-kalvoista voidaan tehdä monikerroksisia, mutta niissä molekyylikerrokset ovat aina samoin päin. Tässä työssä näytteet on valmistettu LS-kalvoina.



**Kuva 15.** LS-kalvon kasvatuksen kuva ja esimerkit monikerroksista LS-kalvoista. Mmuokattu lähteestä [24].

Langmuir-kalvon siirtymistä substraatille voidaan arvioida siirtosuhteen avulla. Siirtosuhte (transfer ratio) voidaan laskea pinta-paine/pinta-ala-mittauksista, kun tiedetään näytelevyn pinta-ala. Puomin kasvatuksen aikana kulkeman matkan avulla saadaan pinta-alan muutos kasvatuksen aikana  $dA$  ja sitä verrataan kasvatusalustan pinta-alaan  $A_s$  jolloin saadaan

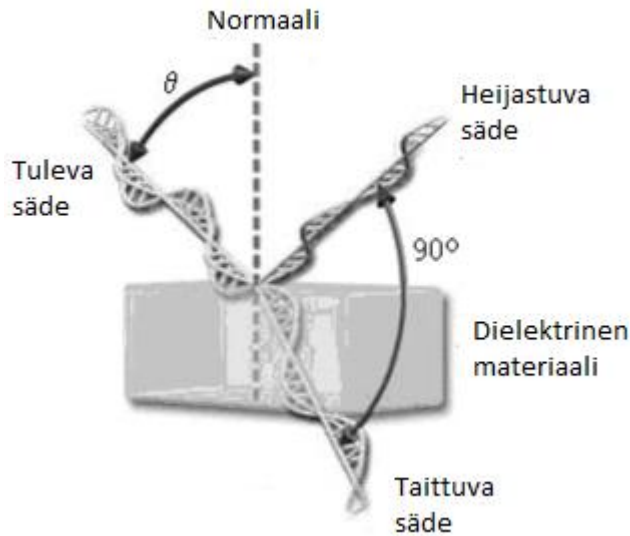
$$TR = dA/A_s \quad (10)$$

Siirtosuhteen avulla voidaan arvioida kalvon siirron onnistumista. Onnistuneessa siirrossa siirtosuhteet eroavat toisistaan hyvin vähän ja lipidi- tai rasvahappomolekyyliellä siirtosuhte on noin 1. Jos siirtosuhteen arvot poikkeavat toisistaan eri kerroilla, voidaan olettaa, että siirto ei ole onnistunut.

### 4.3 Brewsterin kulma -mikroskooppi

Brewsterin kulmamikroskooppi (BAM) kehitettiin lähinnä yhden molekyylikerroksen paksuisten kalvojen tutkimiseen ilma/vesi-rajapinnalla. Sen ja muiden optisten menetelmien etuna on, etteivät ne kajoa näytteeseen. Muihin optisiin menetelmiin verrattuna BAM ja fluoresenssimikroskopia ovat verrattain edullisia ja soveltuvat sekä kiinteille että nestemäisille rajapinnoille. Fluoresenssimikroskopiitekniikoihin verrattuna BAM:in etuna on, että sillä voidaan tutkia suoraan ilma/vesi-rajapinnalla tai dielektrisen substraatin pinnalla olevia ohuita kalvoja, vaikka ne eivät olisi fluoresoivia.

Auringonvalo ja lähes kaikki muut luonnolliset ja teolliset valonlähteet tuottavat valkoista valoa, jonka aaltojen sähkökentän vektorit värähtelevät kaikilla etenemissuuntaa kohtisuoraan olevilla tasoilla. Kun tällainen valo heijastuu tasaiselta pinnalta tai dielektriseltä väliaineelta, se polarisoituu osittain eli heijastuneen valoallon sähkökentän vektorit värähtelevät pinnan suuntaisessa tasossa eli ne ovat tasopolarisoituneet. Tämä on esitetty Kuva 16.



**Kuva 16.** Valon polarisoituminen ja Brewsterin kulma.

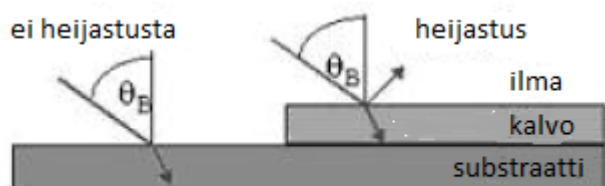
Brewsterin kulma on nimetty 1800-luvun alussa eläneen skottilaisen fyysikon Sir David Brewster mukaan, joka havaitsi, että valon osuessa heijastavaan pintaan tietyssä kulmassa heijastunut valo on tasopolarisoitua. Kuva 16 tätä heijastumiskulmaa  $\theta$  kutsutaan Brewsterin kulmaksi. Se voidaan laskea seuraavan yhtälön mukaan ilmassa kulkevalle valolle

$$n = \frac{\sin(\theta_i)}{\sin(\theta_r)} = \frac{\sin(\theta_i)}{\sin(\theta_{90-i})} = \tan(\theta_i) \quad (11)$$

missä  $n$  on heijastavan pinnan taitekerroin,  $\theta_i$  on valon tulokulma ja  $\theta_r$  valon taitekulma. Kun säde saapuu pintaan kriittisessä kulmassa, heijastuvan valon polarisaatioaste on 100 prosenttia ja sähkövektorit ovat kohtisuorassa tulosuuntaan ja samansuuntaiset heijastavan pinnan kanssa.

BAM:n periaatteena on hyödyntää nollaheijastuskulmaa: rajapinnan suhteen kohtisuoraan lineaarisesti polarisoidun valon kohdatessa ilma/vesi-rajapinnan Brewsterin kulmassa, valo ei heijastu pinnasta. Tämä muutos on esitetty Kuva 17. Koska Brews-

terin kulma riippuu pinnan taitekertoimesta, pinnalle levittyvä molekyylikalvo muuttaa pinnan heijastusominaisuuksia ja nämä erot voidaan havaita.

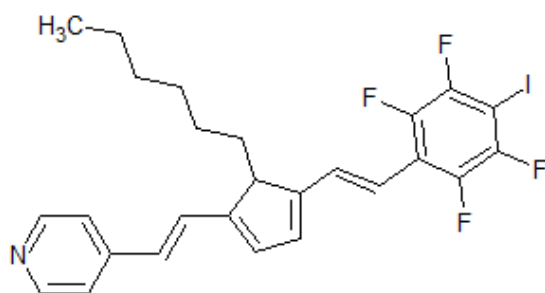


**Kuva 17.** Molekyylikalvon aiheuttama muutos heijastavuuteen ilma/vesi-rajapinnalla.

BAM on avuksi, kun esimerkiksi halutaan seurata reaaliajassa fotokemiallisia reaktioita tai polymerisaatiota, määrittää ohuen kalvon tai LB-kalvon laatu ja homogeenisyys, tutkia absorptioon kinetiikkaa tai tutkia monikerroskalvojen muodostumista. [27]

## 5. MITTAUSTEN SUORITUS

Mittauksia varten tutkittavasta jodotetrafluorostilbeenijohdannaisesta, I4FS, valmistetaan näyteliuos, josta valmistetaan kalvo mittausmenetelmän edellyttämälle substraatille. Aineen saimme jauheena yhteistyökumppaniltamme tri Gabriella Cavallolta (Politecnico di Milano). Yhdisteen rakennekaava on esitetty kuvassa 18.

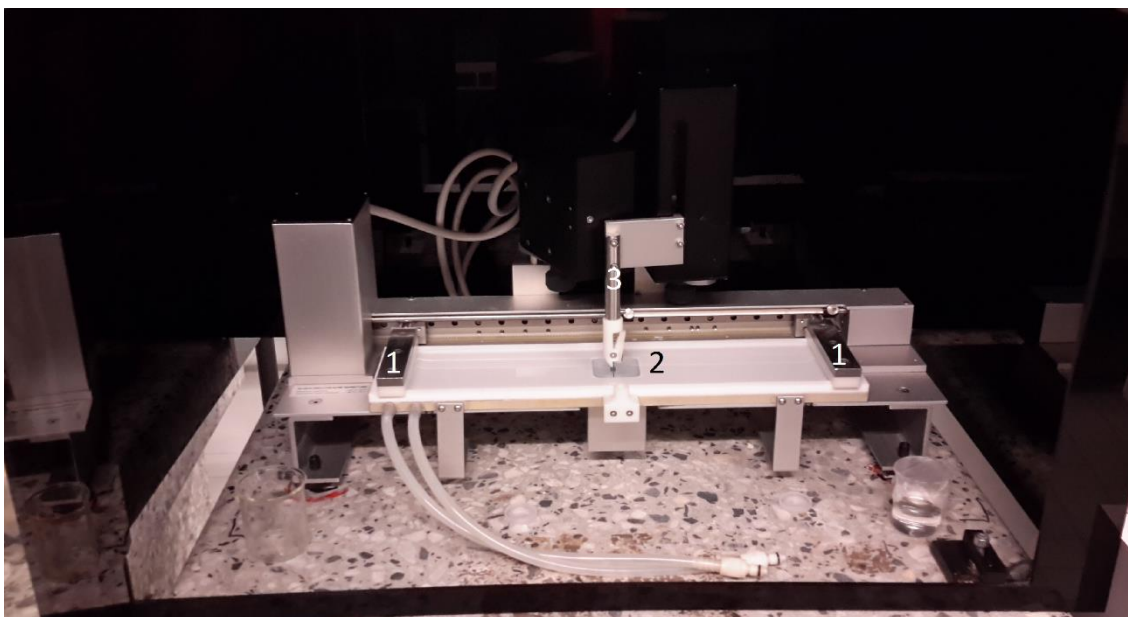


**Kuva 18.** Jodotetrafluorostilbeenijohdannaisen, I4FS:n, rakennekaava.

Yhdisteessä on bentseenirengas, jossa on substituoituneena jodi para-asemassa ja neljä fluoria. Tämän ja pyridiinin välissä on kaksoissidokselliset hiiliketjut ja syklopentadieeni. Tämä rakenne muistuttaa kahta ketjussa olevaa stilbeeniä, paitsi että keskellä on syklopentadieeni bentseenin sijaan. Tästä syklisestä dieenistä lähtee heksaaniketju, jolloin molekyyli on kolmihaarainen. Yhdiste voi muodostaa halogeenisidoksen jodin ja typen välille. Sillä voi myös esiintyä cis/trans-muutos. Kuvassa 18 I4FS on trans-muodossa. Näytekalvojen valmistus suoritettiin Tampereen teknillisen yliopiston puhdistilalaboratoriossa.

## 5.1 Näytteiden valmistus

Perusliuosta varten punnittiin 1,7 mg I4FS-jauhetta, joka liuotettiin 5 ml kloroformia. I4FS:n moolimassa on 805,62 g/mol, jolloin liuoksen konsentraatioksi tulee 0,422 mmol/l. Näyteliuos on kirkasta ja tumman oranssia. Liuosta säilytetään suljettuna ja valolta suojattuna jääkaapissa.



**Kuva 19.** KSV minitrough Langmuir-Blodgett-laitteisto TTY:n puhdastilassa.

Näytteiden valmistamiseen käytetty KSV minitrough (KSV Instruments Ltd.) on esitetty Kuva 19. Laitteen allas (2) ja puomit (1) puhdistetaan pensselillä ja etanolilla ja huuhdotaan milliQ-vedellä. Alafaasina käytetään 0,6 M fosfaattipuskuriliuosta ja sitä lisätään altaaseen niin paljon, että pinta nousee hieman puomeja pitkin. Pinta puhdistetaan Pasteur-pipetin ja imun avulla liikuttamalla pipetin kärkeä pintaa pitkin, jolloin mahdolliset kelluvat epäpuhtaudet saadaan pinnasta pois. Wilhelmy-levyä säilytetään etanolissa ja se huuhdotaan milliQ-vedellä ennen paikalleen ripustamista. Wilhelmy-levy ripustetaan mikrovaa'an koukkuun, Kuva 19 substraatin pidikkeen 3 takana. Ennen pipetointia näyteliuosta sonikoidaan 2 minuuttia. Näyteliuosta annostellaan ruiskulla 140 µl hitaasti pisaroittain puomien väliin eri puolille allasta varovasti pisara pintaan laskien. Annostelun aikana vahditaan, ettei pintapaine nouse ainakaan pysyvästi yli 1 mN/m. Kun tarvittava määrä näytettä on annosteltu, puomeja ajetaan maksimissaan 3 mm/min (4,5 cm<sup>2</sup>/min) nopeudella, kunnes pinta-paine saavuttaa 20 mN/m.

Substraatteina käytettiin kvartsilevyjä UV-VIS ja fluoresenssimittauksiin, piilevyjä SEM:iä varten ja ohuita peitinlaseja fluoresenssielinaikamittauksiin. Kalvo kasvatetaan substraatille manuaalisesti kosketa-ja-nosta-menetelmällä, kun pintapaine on vakiintunut 20 mN/m, kalvo kuivataan tyellä ja kun pintapaine saavuttanut uudelleen 20 mN/m, kasvatus voidaan toistaa. Apuvälineenä käytetään kuusiokoloavainta, jonka lyhyemmässä päässä on hieman sinitarraa, johon näytelevy kiinnitetään. Valmista näytelevyä säilytetään pääsääntöisesti valolta suojattuna.

## 5.2 Siirtosuhte

Siirtosuhteen lasketaan yhtälöllä 11. Taulukossa 1 on esitetty esimerkkejä siirtosuhteista kvartsilasille kasvatetuista kalvoista. Lasketut siirtosuhteen ovat suurempia kuin 1, mutta eroavat hyvin vähän toisistaan. I4FS ei ole tyypiltään lipidi/rasvahappo molekyyli ja käyttäytyy siksi erilailla. Siirtosuhdetta käytetään vain arviona ja kasvatuksen onnistuminen arvioidaan siirtosuhteen sijaan absorptiospektrien avulla.

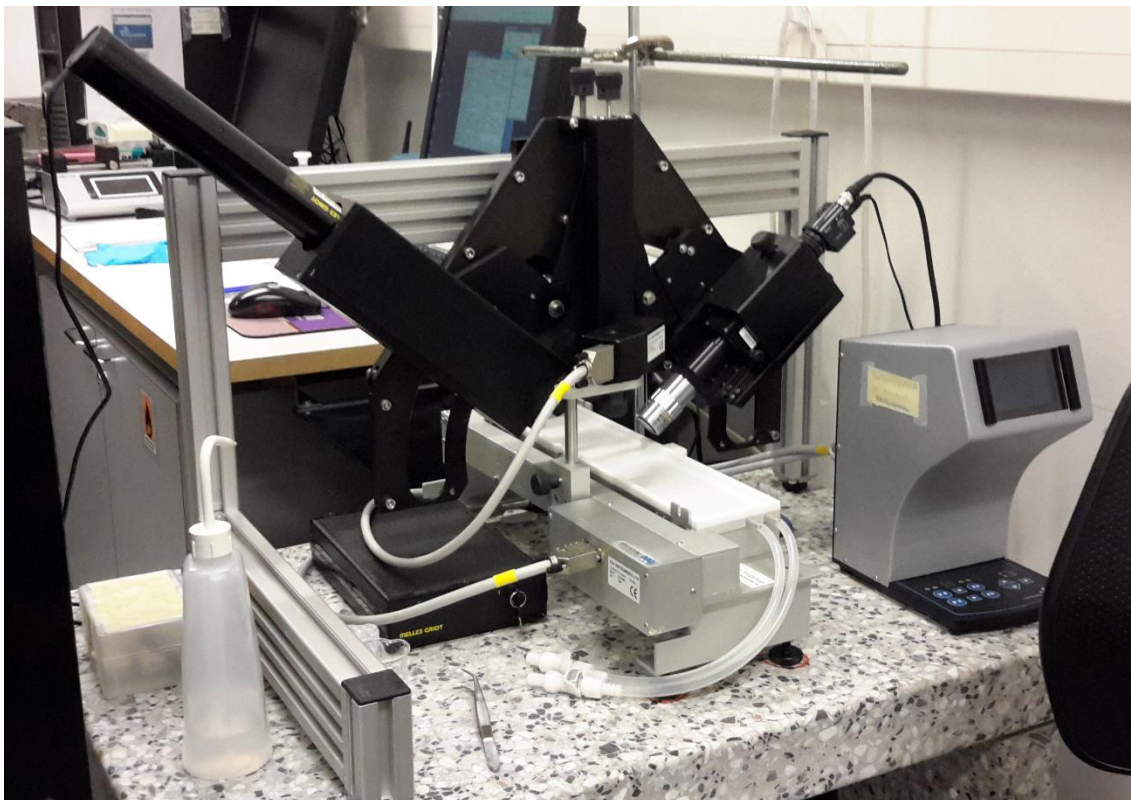
**Taulukko 1.** Kahden näytteen kasvatuksen siirtosuhteet.  $br_i$  on puomin paikka ennen kasta,  $br_f$  on puomin paikka kaston jälkeen, kun pintapaine 20 mN/m on saavutettu,  $dbr$  on puominpaikkojen erotus.  $dA$  on puomien kulkema pinta-ala ja  $A_s$  substraatin pinta-ala ja  $TR$  siirtosuhte

Näyte	kerros	$br_i$	$br_f$	$dbr$	$dA$	$A_s$	TR
Q1	1	126.145	129.063	2.918	437.7	350	1.250571
Q1	2	129.662	132.914	3.252	487.8	350	1.393714
Q2	1	135.273	138.268	2.995	449.25	350	1.283571
Q2	2	138.837	141.993	3.156	473.4	350	1.352571



### 5.3 BAM

Brewsterin kulma-mikroskoopin kuvat otettiin KSV OPTREL BAM300-laitteella. Kalvoa kuvattiin koko isotermin puristuksen ajan. Langmuir-allas ja Brewsterin kulma näkyvät Kuva 20.



*Kuva 20. KSV Optrel BAM300-laitteisto.*

### 5.4 Absorptio- ja fluoresenssispektrien mittaaminen

UV-VIS-spektrit mitattiin Shimadzu UV-1800 laitteella. Absorptiospektrit mitattiin kvartsilevyiltä, joille oli valmistettu kaksikerroksinen kalvo. Mittaustelineenä käytettiin laitteen kyvettipidikettä, johon levyt asetettiin varovasti pinseteillä aina samaan reunaan pystyyn.

Fluoresenssi-spektrit mitattiin Fluorolog 3- Yobin Yvon Spex laitteella, jossa valonlähteenä käytettiin 450 W Ksenon-lamppua. Spektri mitataan samoilta kvartsilevyiltä kuin absorptiospektrit. Kiinteät substraatit kiinnitettiin pidikkeeseen niin, että substraatti muodosti  $68^\circ$  asteen kulman viritysvaioon nähden ja emissio monitoroitiin substraatin läpi. Raon leveydet olivat 1 nm viritykselle ja 5 nm monitoroinnille. Kutakin aallonpituutta mitattiin 0,5 sekunnin ajan. Näytteitä viritettiin aallonpituudella 370 nm tai 420

nm ja mittaus tapahtui 420-730 nm tai 460-800 nm. Spektrit korjattiin detektorina käytetyn valomonistinputken aallonpituusriippuvuuden ja viritysvälojen intensiteetin suhteen.

I4FS:n fluoresenssin elinajat mitattiin PicoHarp 300 single photon counting -laitteistolla. Laitteiston pääkomponentit ovat valonlähde (pulssitettu laseriodi LDH-P-485), TSCPC-moduli ja detektori. Laitteiston detektorissa on monokromaattori, joka päästää vain tietyn aallonpituiset fotonit valomonistin putkelle (photomultiplier tube, PM), jossa ne havaitaan. TSCPC-moduli yhdistää toisiinsa diskriminaattorin (constant friction discriminator, CFD) aika-amplitudi -muuntimen (time-to-amplitude converter, TAC) ja monikanava-analysaattorin (multichannel analyser, MCA). Kiinteä substraatti asetettiin viritysväloön nähden mahdollisimman samalla tavalla kuin stationäärisissä mittauksissa eli viritysväloön nähden noin 68°:n kulmaan ja emissio monitoroitiin substraatin läpi. Näytettä viritettiin aallonpituudella 483 nm 2,5 MHz:n ja 128 ps:n valopulssilla.

Tutkimuksissa käytetty fluoresenssielinajamikroskooppi Micro Time 200 koostuu neljästä perusosasta, jotka ovat Olympus IX71-mikroskooppi, pulssattuihin laseriodeihin perustuva viritysjärjestelmä, kaksi detektoria ja optiset elementit sisältävä optinen yksikkö. Perusosien lisäksi laitteistoon kuuluu tiedonkeruu- ja säätöelektroniikkaa. Järjestelmän erotuskyky on 0,30 µm. Näytteen viritetyssä aallonpituus oli 483 nm ja fluoresenssisignaalin havaitsemiseen käytettiin yksittäisfotonivyörydiodeja (single photon avalanche diode, SPAD), joiden detektioaallonpituusalue on 400-900 nm ja jotka oli moduloitu taajuudelle 40 MHz. Mittauksissa käytettiin satakertaisesti suurentavaa öljyimmersio-objektiivia.

Kummastakin aikaerotteisesta mittausmenetelmästä saadut fluoresenssin vaimenemiskäyrät sovitettiin kahden eksponentin summaan:

$$I(t, \lambda) = a_1(\lambda)e_1^{-t/\tau_1} + a_2(\lambda)e_2^{-t/\tau_2}, \quad (12)$$

missä  $\tau_i$  on elin aika,  $a_i(\lambda)$  pre-eksponentiaalikerroin tietyllä aallonpituudella  $\lambda$  ja  $t$  on aika (ns).

## 5.5 SEM

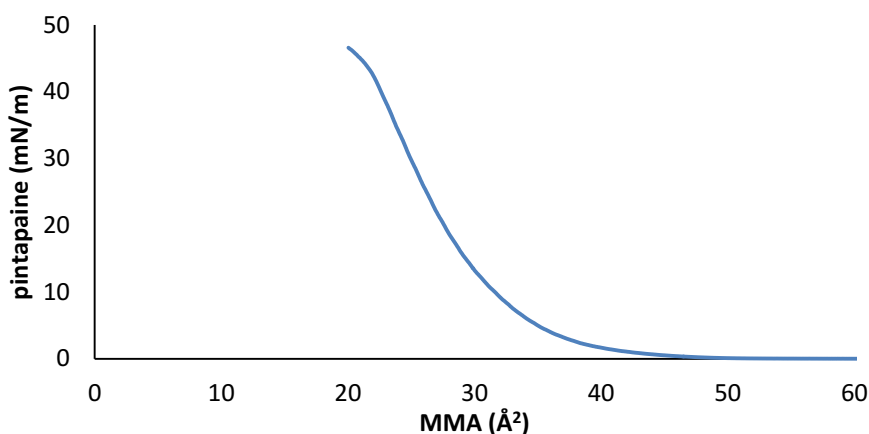
Pyyhkäisyelektronimikroskoopin (SEM Zeiss Ultra 55) kiihdytysjännitteenä käytettiin 0,5–2,0 kV ja näytteistä kuvattiin 200–100 000-kertaisia suurennoksia. Pii-levyille kasvatetut näytteet kuvattiin sellaisenaan.

## 6. MITTAUSTULOKSET

### 6.1 Kalvojen valmistuksen optimointi

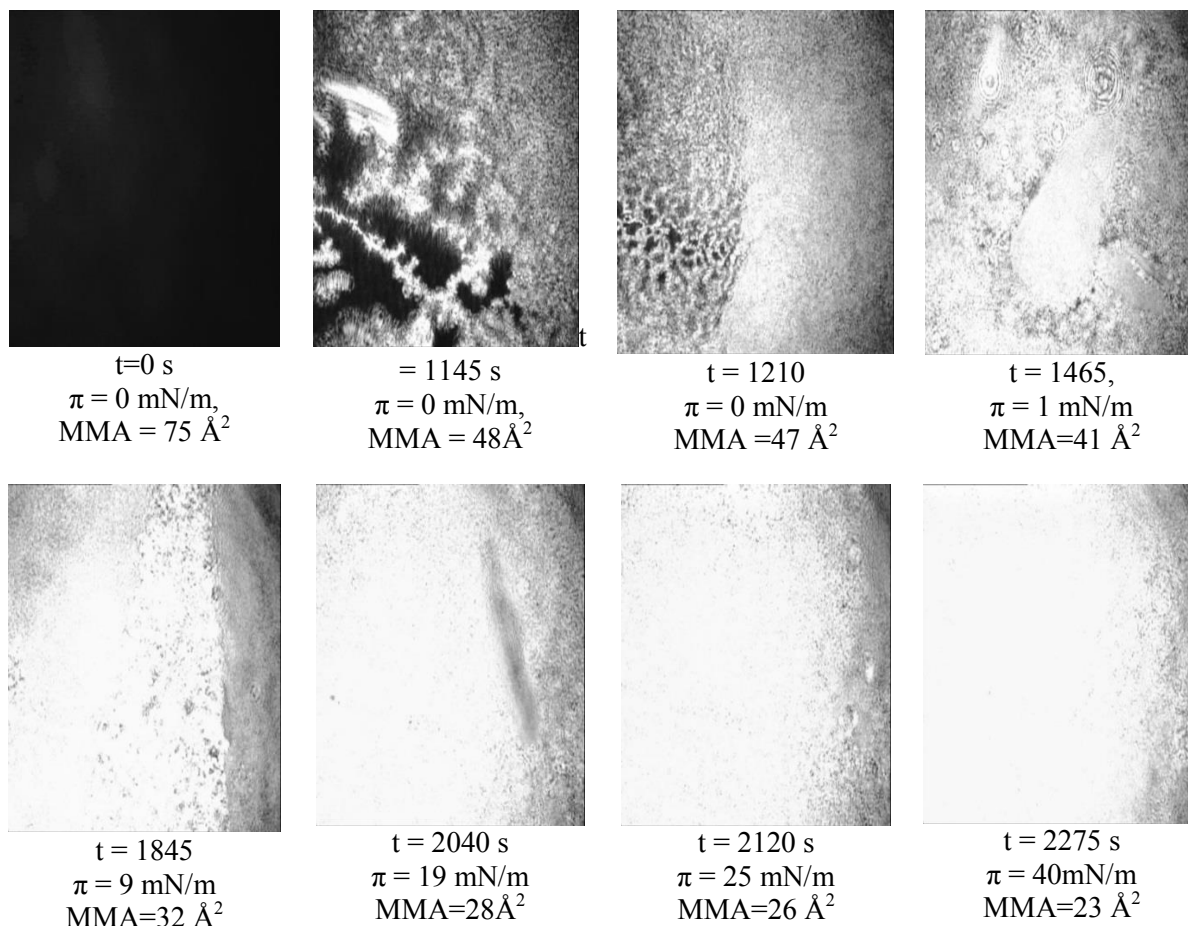
#### 6.1.1 Isotermit ja BAM

Näytteiden puristamisen ja kasvattamisen aikana tallennetaan jatkuvasti pinnan pintapainetta ja puomien sijaintia. Puomien sijainnin avulla voidaan laskea altaan pinta-ala ja edelleen MMA, kun näytteen tilavuus ja konsentraatio tiedetään. Näistä mittaustuloksista voidaan yhdistää vakio­lämpötilassa pintapaine/pinta-ala-isotermi, jota usein kutsutaan vain isotermitseksi. Isotermin avulla voidaan arvioida yksikerroskalvon ominaisuuksia. [28 s. 19]



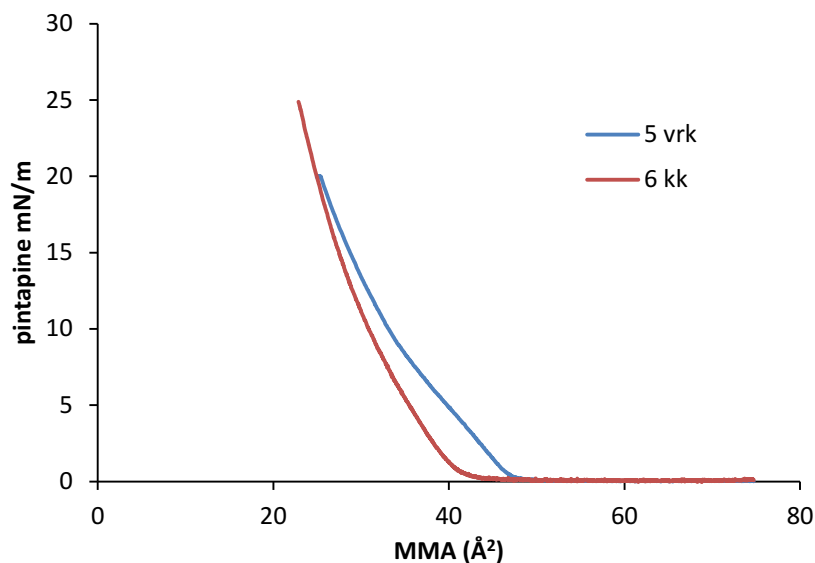
**Kuva 21.** I4FS:n isotermi, joka on mitattu 21 °C lämpötilassa ja alafaasina on fosfaatitipuskuriliuos 1mM.

Kuva 21 on esitetty I4FS:n isotermi, jossa kalvon puristamista on jatkettu kollapsiin asti, joka tapahtuu noin 45 mN/m kohdalla. Ekstrapoloimalla kuvaajan lineaarista osaa väliltä 20–40 mN/m voidaan arvioida, että keskimääräinen pinta-ala per molekyyli pintapaineessa 0 mN/m on 32,5 Å². I4FS ei leviä tasaisesti alafaasin pinnalle, vaan muodostaa jo pipetoitaessa lauttoja. I4FS:n pintapaine on aluksi lähellä 0 mN/m ja alkaa noin MMA:ssa 45 Å² nousta tasaisesti kaartuen kollapsiin asti.



**Kuva 22.** BAM-kuvat I4FS:n Langmuir-kalvosta, joka on mitattu 21 °C lämpötilassa ja alafaasina fosfaattipuskuriliuos 1 mM. Kuvien koko on 400 × 600 μm. Kuvien alla on kerrottu mittausaika ( $t$ ), pintapaine ( $\pi$ ) ja keskimääräinen pinta-ala per molekyyli ( $MMA$ ).

Puristuksen aikana kalvon muodostumista seurattiin BAM:illa. Kuva 22 on esitetty kalvon valmistamisen aikaiset oleelliset muutokset. Heti pipetoinnin jälkeen kuva on aivan musta, sillä kameran näkymän alueella ei ole kalvoa. Seuraavissa kuvissa havaitaan kirkkaita lauttoja, joiden reunoilla on harvempia epätasaisia alueita, vaikka pintapaine on edelleen nolla. Lauttojen kirkkaus antaa syyn olettaa, että I4FS ei muodosta yksimolekulaarista kalvoa. Pinta-alan edelleen pienentyessä lautat alkavat yhdistyä. Lauttojen yhdistyessä niiden keskelle syntyy kirkkaampia todennäköisesti kiteisiä alueita. Pintapaineen ollessa 9 mN/m kalvossa näkyy vielä tummempia kohtia kirkkaalla pohjalla. Pintapaineen kasvaessa 19:sta 40 mN/m havaitaan enää kuvan kirkastumista ja tasaantumista. Näytteet on valmistettu pintapaineessa 20 mN/m, joten kalvo on silloin suurimmaksi osaksi kiteisessä muodossa.



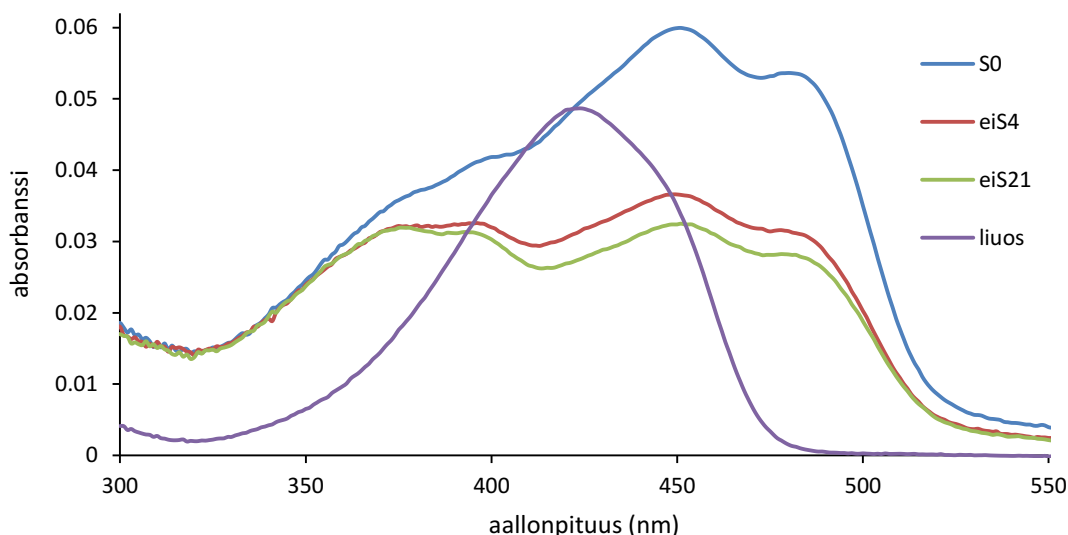
**Kuva 23.** Tuoreesta ja 6 kk vanhasta liuoksesta mitatut I4FS isotermit 21 °C lämpötilassa ja 1 mM fosfaattipuskuriliuos alafaasissa.

Liuoksen ikä ja säilytysaika vaikuttavat isotermin muotoon, kuten Kuva 23 voidaan nähdä. 5 päivää vanhasta liuoksesta mitatun isotermin pintapaine nousee aiemmin ja jyrkemmin kuin kuusi kuukautta myöhemmin samasta liuoksesta valmistetun kalvon pintapaine. Molemmat kuvaajat poikkeavat muodoltaan myös Kuva 21 isotermitä, jonka pintapaineen kasvu on tasaisemmin kiihtyvää.

### 6.1.2 Näytteen valmistuksen vaikutus

Liuoksen lämpötilan vaikutus kasvatetun näytteen absorptiospektriin havaittiin, kun valmistettiin kolme näytettä erilaisilla esivalmisteluilla. Yksi näyte säilytettiin jäävedessä sonikoinnin ja pipetoinnin ajan (S0), toinen pipetoitiin ilman sonikointia suoraan jääkaapista (eiS4) ja kolmannen annettiin sonikoimatta lämmitä huoneenlämmössä kaksi tuntia (eiS21). Kaikissa näytteissä on kaksikerrosta, jotka on kasvatettu pintapaineessa 20 mN/m. Näyteliuoksen käsittely ei vaikuta isotermin muotoon eikä siirtosuhteisiin. Puomin liikkeestä kasvatuksen aikana, voidaan laskea siirtosuhteet. Kasvatettujen kalvojen keskimääräinen siirtosuhte on  $1.69 \pm 0.44$ . Siirtosuhteet ovat samaa luokaa näytteestä riippumatta ja toisen kerroksen siirtosuhte on aina hieman suurempi (0,1) kuin ensimmäisen.

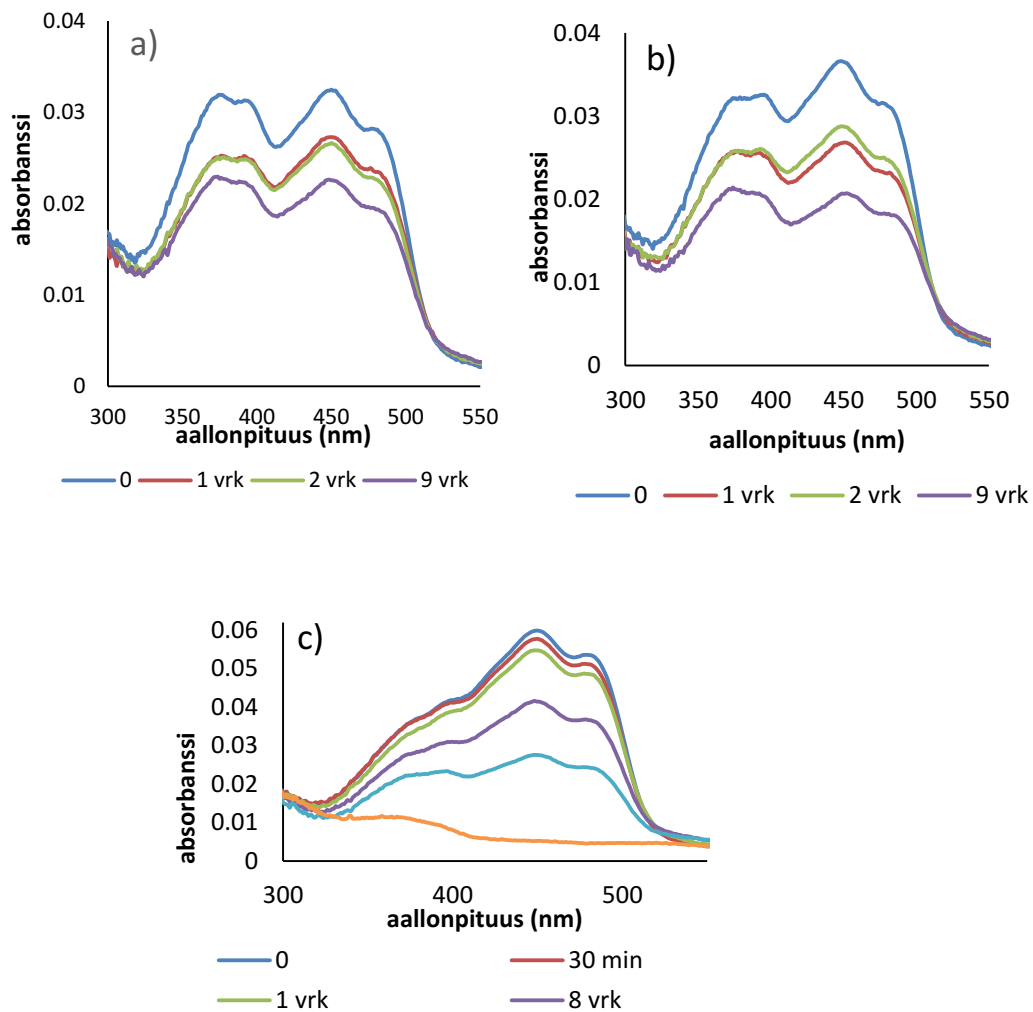
Heti valmistuksen jälkeen kalvoista mitattiin absorptiospektrit, jotka on esitetty Kuva 24. Havaittiin, että S0 näytteen absorbanssi 450 nm kohdalla on selkeästi suurempi kuin 375 nm kohdalla. Lämmenneen näytteen eiS21 absorbanssi 450 nm kohdalla on valmiiksi intensiteetiltään samassa tasossa 375 nm absorbanssin kanssa. Tästä voidaan päätellä, että liuoksen käsittely ennen pipetointia vaikuttaa näytteen laatuun.



**Kuva 24.** Eri tavoin valmistettujen näytteiden absorptiospektrit heti kasvatuksen jälkeen. Näytteissä on 2 kerrosta ja kasvatuksessa  $\pi = 20$  mN/m. (S0) Liuos jäävedessä sonikoinnin ja pipetoinnin ajan, (eiS4) pipetoitu ilman sonikointia suoraan jääkaapista, (eiS21) liuos huoneenlämmössä kaksi tuntia ja pipetoitiin sonikoimatta ja (liuos) I4FS:n kloroformiliuoksen absorptiospektri jaettuna 10:llä. 2 kerrros näytteissä ei spektrien perusteella havaita selkeästi vain H- tai J-aggregaattien muodostumista.

Kuva 24 on esitetty erilailla esikäsiteltyjen näytteiden absorptiospektrit heti näytteen valmistuksen jälkeen ja puhtaan I4FS:n kloroformiliuoksen absorptiospektri jaettuna 10:llä. Liuoksen absorptiospektrin maksimiabsorbanssi on 425 nm kohdalla ja kalvoista mitattujen absorptiospektrien maksimit ovat 450 nm kohdalla ja ne ovat leveämmät kuin liuoksen maksimialue. I4FS:n absorptiospektri LS-kalvolla eroaa liuospektristä huomattavasti sillä puhtaasta I4FS:stä valmistetulla LS-kalvolla aine on väkisininkin aggregoitunutta.

Kuvan 25 näytteistä seurattiin absorbanssia ajan funktiona. Mittausten välillä näytteitä säilytettiin pimeässä huoneenlämmössä. Jäävedessä sonikoidun näytteen S0 absorbanssi 450 nm kohdalla on aluksi noin kaksinkertainen ja lopuksi noin puolet 375 nm absorbanssista. Tässä näytteessä muutokset havaitaan selkeämmin kuin näytteissä eiS21 ja eiS4. Absorbanssien suhteen lisäksi 450 nm absorbanssi on voimakkaampi, kun näyteliuoksen lämpötila on nollassa näyteliuosta pipetoidessa. Näyte on ollut mittauksia lukuun ottamatta pimeässä huoneenlämmössä 19 vuorokauteen asti, minkä jälkeen se on ollut valossa laboratorion pöydällä. Näytteen absorbanssi lähes häviää ja se voi viitata photobleaching-ilmiöön eli valon aiheuttamaan värin katoamiseen, kun molekyylin aromaattisuus tai konjugoituneisuus katkeaa.

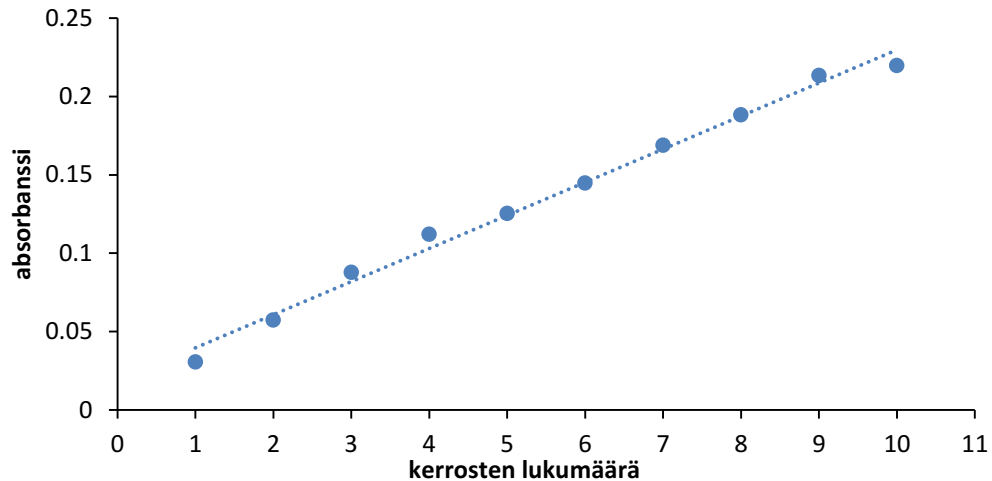


**Kuva 25.** Eri tavoin valmistettujen, a) ei sonikoitu +21 °C (eiS21) , b) ei sonikoitu +4 °C (eiS4) ja c) jäävedessä sonikoitu (S0), näytteiden absorptiospektrit ajan funktiona. Näytteissä 2 kerrosta,  $T = 21$  °C, kasvatuksessa  $\pi = 20$  mN/m.

### 6.1.3 Kerrosmäärän vaikutus absorbanssiin

Monikerroskalvojen kasvatuksen onnistumista tutkittiin mittaamalla absorptiospektri jokaisen kerroksen jälkeen. I4FS liuos on sonikoitu ennen pipetointia ja kasvatus on tehty pintapaineessa 20 mN/m. Liuos on laitettu sonikaattoriin jääkaapista, joten sen lämpötila on lähellä 4 °C pipetoitaessa. Absorbanssi 448 nm kohdalla jokaisen kerroksen jälkeen on esitetty Kuva 26.





**Kuva 26.** Absorbanssi 448 nm:n kohdalla kerrosmäärän funktiona. I4FS-kalvolla, joka on kasvatettu 20 mN/m pintapaineessa 21 °C lämpötilassa ja 1 mM fosfaattipuskuriliuos alafaasina. Pisteistöön on sovitettu lineaarinen riippuvuus.

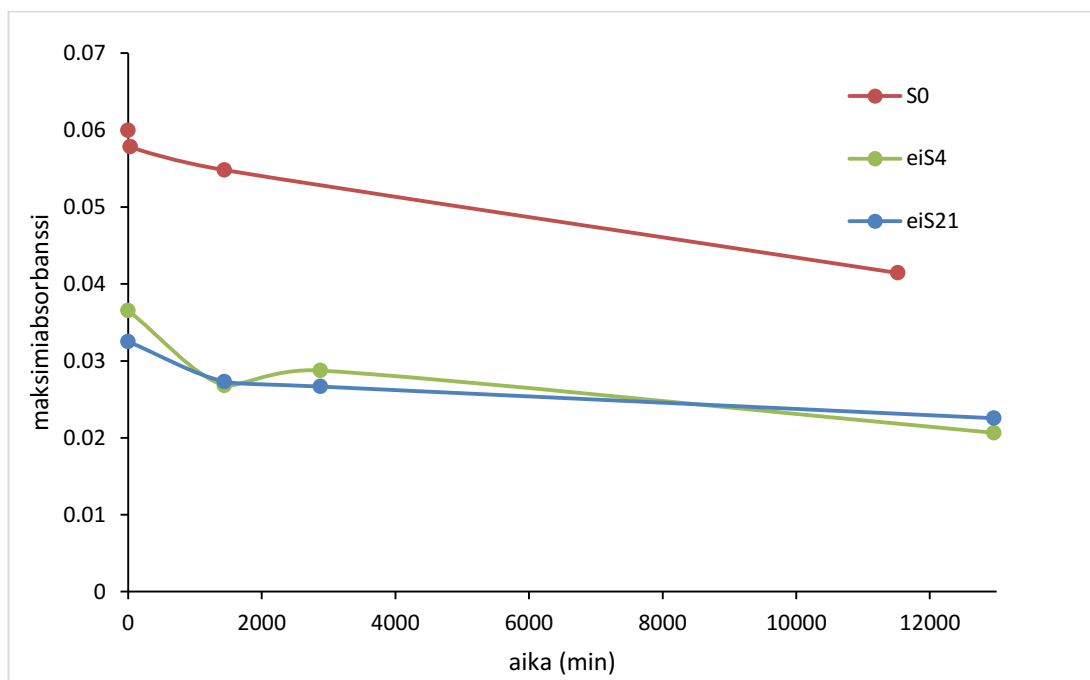
Kuvasta 26 nähdään, että absorbanssi kasvaa lineaarisesti kerros kerrokselta, absorbanssi per kerros on 0,0211. Mittauspisteiden kautta piirretyn suoran y-akselin leikkauspiste, 0,0186, poikkeaa nolasta sironnan vuoksi. Ensimmäisen kerroksen absorptiospektri saattaa poiketa suoralta siksi, että ensimmäinen kerros kalvoa tasoittaa lasia, joka on aina epätasaisempi kuin valmistettu kalvo. Kymmenennen kerroksen absorbanssi on hieman suoran alapuolella, joten absorbanssin kasvu on hidastunut ja tämän paksumpia kalvoja ei kannata sen vuoksi tehdä.

## 6.2 Käyttäytyminen ajan funktiona

Näytteiden optisissa ominaisuuksissa tapahtuu muutoksia ajan funktiona sekä pimeässä säilytettäessä että valon vaikutuksesta. Muutoksia havaittiin sekä absorptiospektreissä että fluoresenssispektreissä. Ilmiötä tutkittiin mittaamalla näytteistä absorptio- ja fluoresenssispektrejä erilaisissa olosuhteissa. Valon vaikutusta tutkittiin tarkemmin säilyttämällä näytteitä eri aallonpituksissa valossa. Nämä tulokset on esitetty kappaleessa 6.3.

### 6.2.1 Muutokset absorptiospektrissä

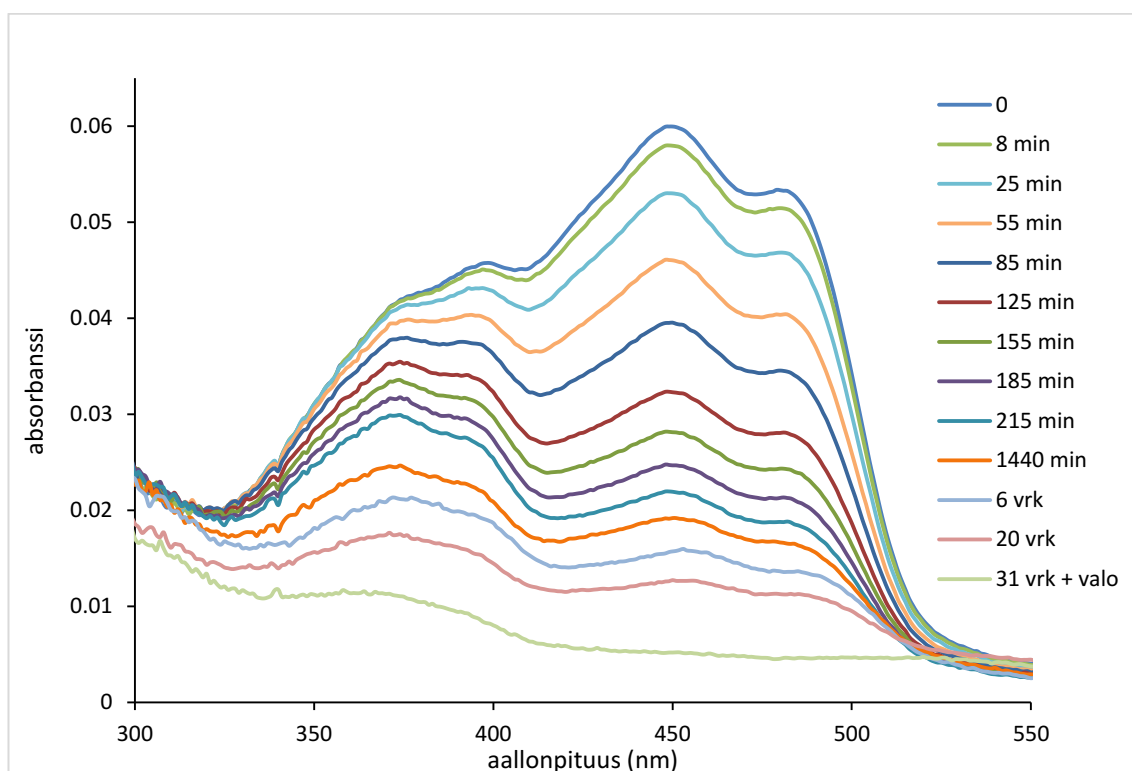
Absorptiospektreissä havaittiin valon aiheuttamia muutoksia Kuva 25. Kuva 25 spektri- en maksimiabsorbansseista 450 nm kohdalla piirretään kuvaajat ajan funktiona ja ne on esitetty Kuva 27.



**Kuva 27.** Absorbanssi 450 nm kohdalta ajan funktiona kolmelle eri tavoin valmistetulle näytteelle: sonikoitu jäävedessä (S0), ei sonikoitu +4 °C (eiS4) ja ei sonikoitu +21 °C (eiS21). Kaikissa LS-kalvoissa 2 kerrosta, kasvatus  $\pi$  20 mN/m,  $T=+21$  °C.

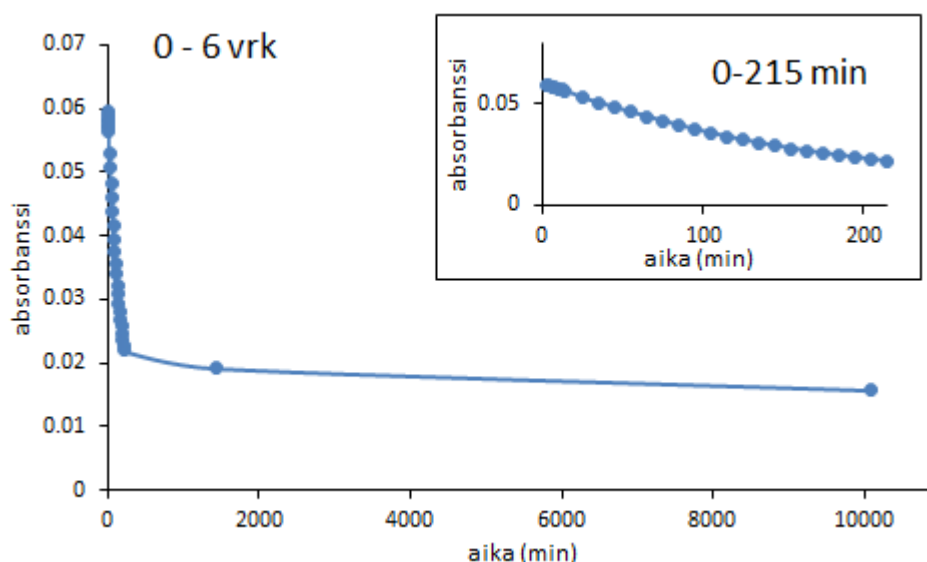
Kuva 27 havaitaan absorbanssin pienenevän ensimmäisen vuorokauden aikana nopeammin ja hidastuvan tämän jälkeen. Näytteitä on mittausten välillä säilytetty huoneenlämmössä pimeässä, joten valo ei ole päässyt vaikuttamaan absorbanssiin. Kuvaajien lineaarisen osan kulmakerroin on luokkaa  $10^{-7} \text{ min}^{-1}$

Absorbanssin muutosta ajan funktiona tutkittiin tarkemmin mittaamalla näytettä aluksi tiheämmin. Tätä varten valmistettiin näyte, jossa I4FS liuos sonikoitiin ennen pipetointia ja kvartsilasille kasvatettiin kaksi kerrosta pintapaineessa 20 mN/m. Kyseinen näyte oli ensimmäiset 215 minuuttia absorptiospektrometrin sisällä, joten se on mittausten välillä ollut laitteen 200 nm valossa. Lisäksi absorptiospektrit on mitattu aluksi 8 kertaa 2 minuutin välein ja sitten 20 kertaa 10 minuutin välein. Vasta näiden mittaussarjojen jälkeen näyte on suljettu pimeään ja otettu valoon vain mittaamista varten. Kuva 28 on esitetty mitatut absorbtiospektrit ajan funktiona.



**Kuva 28.** Absorptiospektrit I4FS LS-kalvolle ajan funktiona. Näytteessä on 2 kerrosta, kasvatuksessa  $\pi = 20$  mN/m, ja  $T = 21,4$  °C.

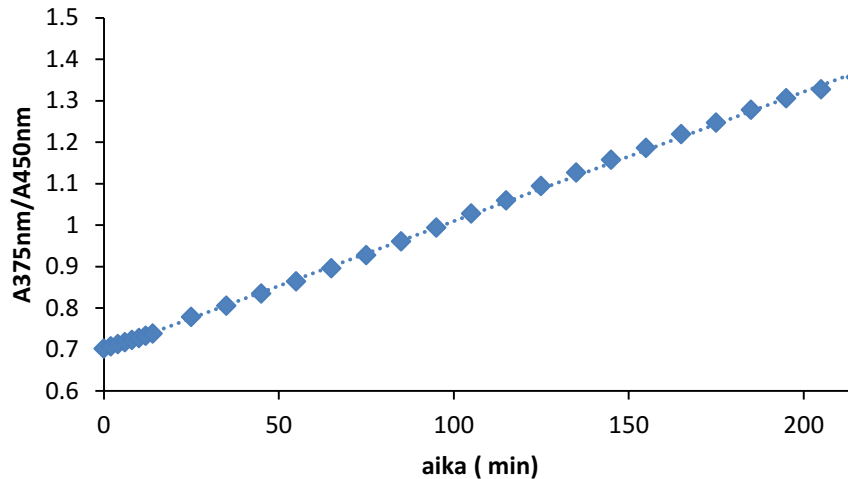
Kuva 28 nähdään LS-kalvon absorptiospekttrin muutokset ajan funktiona. Kuvaajista huomataan, kuinka absorbanssit 450 nm ja 375 nm kohdilla laskevat eri nopeudella.



**Kuva 29.** Absorbanssi ajanfunktiona 450 nm kohdalla kuvan 30 absorptiospektrisarjasta. Oikeassa yläkulmassa suurennos kuvaajan ensimmäisestä 215 minuutista.

Kuva 29 kuvaajan ensimmäisen 215 minuuttiin aikana, minkä näyte on absorptiospektrometrissä, absorbanssi laskee lähes lineaarisesti kulmakertoimella  $-0,0002 \text{ min}^{-1}$ . Tämän jälkeen, kun näyte on siirretty pimeään, absorbanssin lasku hidastuu, mutta on edelleen lineaarista kulmakertoimella  $-0,2 \times 10^{-7} \text{ min}^{-1}$ . Kuvaajasta voidaan päätellä, että tapahtuu kaksi eri prosessia, valo- ja pimeäreaktio. Kuva 29 ja Kuva 27 vertaamalla huomataan, että absorbanssin lasku on huomattavasti voimakkaampaa, kun näyte on altistunut mittauksen aikana valolle absorbtiospektrometrin sisällä.

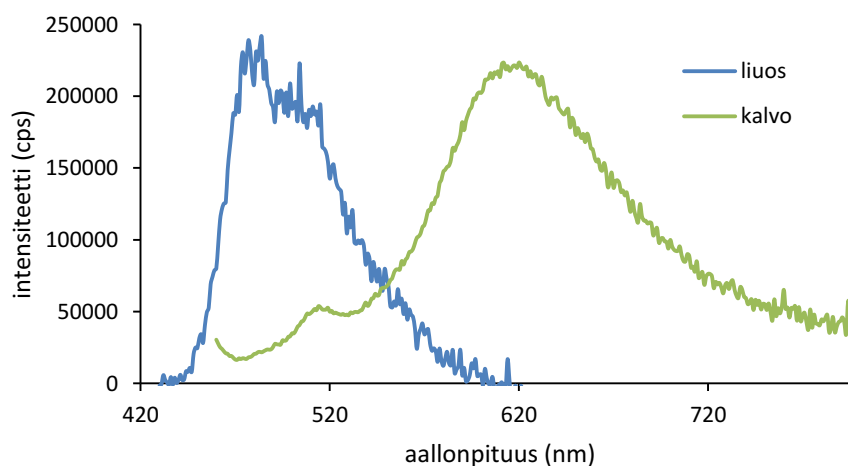
Kuva 30 on esitetty ensimmäisen 215 minuutin aikana tapahtuva 450 nm ja 375 nm absorbanssien suhteen muutos Kuva 28 kuvaajille. 215 minuutin jälkeen suhde pysyy samana, vaikka absorbanssi laskee. Aluksi tapahtuu yhtä aikaa sekä valo- että pimeäreaktio, mutta 215 minuutin jälkeen esiintyy vain pimeäreaktio. Koska pimeäreaktiossa absorbanssien suhde ei muutu, voidaan olettaa, että Kuva 29 alun kulmakerroin,  $0,0031 \text{ min}^{-1}$ , on valoreaktion nopeuskerroin. Valoreaktio on siis melko nopea.



**Kuva 30.** Absorbanssien suhteen muutos 375nm ja 450 nm kohdalla ajan funktiona aikavälillä 0 – 215 min kuvan 21 absorptiospektrisarjalle.

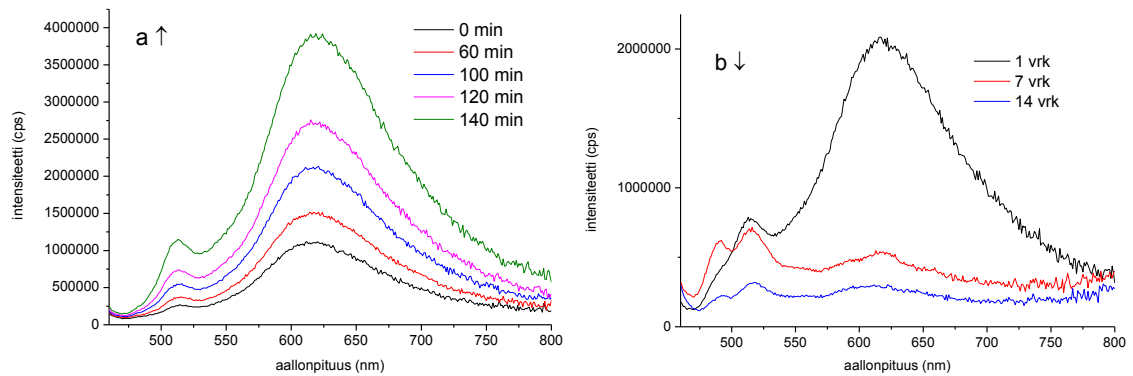
### 6.3 Muutokset fluoresenssispektreissä

Valon vaikutusta näytteiden optisiin ominaisuuksiin tutkittiin altistamalla näytteitä erilaisille valon aallonpituuksille ja mittaamalla, niiden fluoresenssispektrejä. Kuva 31 on I4FS-liuoksen fluoresenssispekttri. Siinä muoto ja huipun sijainti poikkeavat I4FS:n LS-kalvojen fluoresenssispektreistä. Liuoksen fluoresenssispektrin maksimi on 480 nm kohdalla ja kalvolla se on siirtynyt 620 nm kohdalle.



**Kuva 31.** I4FS-liuoksen fluoresenssispekttri, kun  $\lambda_{ex} = 420\text{nm}$ , mittausväli 430-700 nm,  $I = 0,1\text{ s}$  ja 2-kerroskalvon ensimmäisen fluoresenssispekttri, jonka intensiteetti jaettu viidellä ja  $\lambda_{ex} = 450\text{ nm}$ , mittausväli 460 – 800 nm, slits 1/5 ja  $I = 0,5\text{ s}$ .

I4FS:n ominaisuuksien tutkimista jatkettiin fluoresenssispektrien avulla mittaamalla aiemmin esitettyä absorptiospektrisarjaa vastaava fluoresenssispektrisarja, jolla selvitetiin kuinka fluoresenssispektri muuttuu ajan funktiona Näytettä kaksikerroksista LS-kalvoa on mitattu aluksi kahdeksan kertaa 1000 sekunnin välein eli 140 minuuttia ja sen jälkeen näyte on laitettu huoneenlämpöön pimeään ja otettu mitattavaksi vielä 1, 6, 7 ja 14 vuorokauden kuluttua. Näyte on altistunut valolle vain mittauksen aikana, mittauksen välillä se on ollut pimeässä.



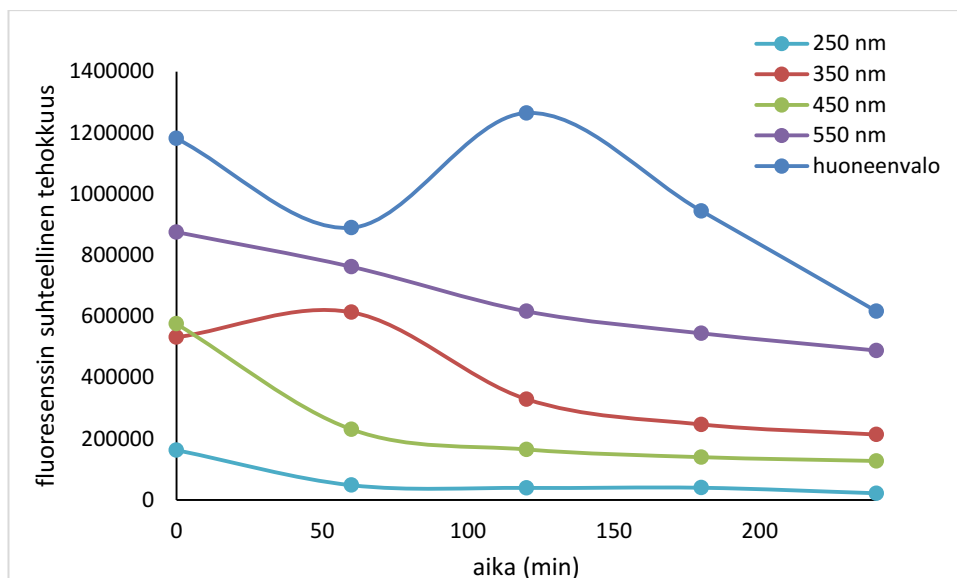
**Kuva 32.** Fluoresenssispektrisarja 8 kertaa 1000 sekunnin välein, minkä jälkeen 1, 6, 7 ja 14 vuorokauden jälkeen. Kuvassa a) 0-140 minuuttia kasvatuksen jälkeen ja b) 1-14 vuorokautta kasvatuksen jälkeen. Mittauksissa  $\lambda_{ex} = 450\text{nm}$ , mittaussväli 460-800 nm, slits 1/5,  $I = 0,5\text{ s}$ .

Mittaussarjasta kuvassa 32 nähdään, että intensiteetti kasvaa nolasta 140 minuuttiin saakka. Vuorokauden kuluttua intensiteetti on laskenut noin 100 minuutin intensiteettiä vastaavalle tasolle. Myöhemmissä mittauksissa intensiteetti lähestyy nollaa.

Valon vaikutusten tutkimista varten valmistettiin viisi näytettä, joita altistettiin erilaisille valoille. Näytteet ovat olleet joko 250 nm, 350 nm, 450 nm, 550nm tai huoneen valossa neljä tuntia ja sen jälkeen pimeässä. Fluoresenssispektrien pinta-alat laskettiin ja niiden avulla fluoresenssin suhteellinen tehokkuus kaavalla

$$\phi = I_t \times \frac{A_0 - (t \times 0.0002)}{A_0}, \quad (13)$$

jossa  $I_t$  on intensiteetti,  $A_0$  absorbanssi,  $t$  on aika minuutteina ja  $0,0002\text{ min}^{-1}$  on viritysaallonpituuden, 450 nm, absorbanssin pienenemisen kulmakerroin Kuva 29.

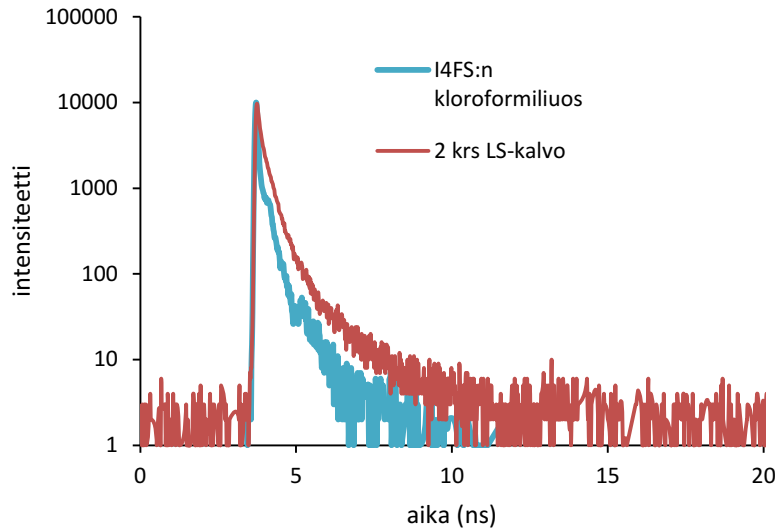


**Kuva 33.** Fluoresenssin suhteellinen tehokkuus ajan funktiona. Näytteet on altistettu 550, 450, 350, 250 nm valon aallonpituuksille tai huoneenvalolle. Mittauksissa  $\lambda_{ex} = 450$  nm, mittaussväli 460 - 800 nm, slits 1/5 ja  $I=0,5$  s. Näytteissä on 2 kerrosta, kasvatuksessa  $\pi = 20$  mN/m,  $T = 21$  °C. Kuvassa esitetty aikaväli 0-4 h.

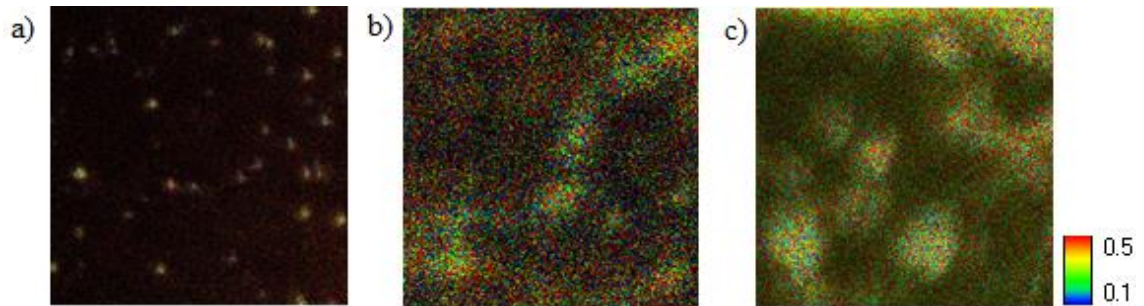
Kuva 33 esitetyt fluoresenssin suhteelliset tehokkuudet eivät muutu lineaarisesti, vaan alun pienenemisen jälkeen ne kasvavat osassa näytteistä. Eniten vaihtelua fluoresenssispektrin pinta-alassa on huoneenvalolle ja 350 nm valolle altistetuissa näytteissä. Muissa näytteissä suhteellinen tehokkuus pienenee aluksi jyrkemmin tasaantuen ajan kuluessa.

## 6.4 Fluoresenssin elinaika ja jakautuminen

I4FS:n fluoresenssin elinaika mitattiin yksittäisfotonilaskentaan perustuvalla laitteistolla (TCSPC) sekä liuoksesta että LS-kalvolta. Kalvon morfologiaa tutkittiin lisäksi fluoresenssielinaikamikroskoopin avulla. Tätä varten I4FS:stä valmistettiin 1 kerroksinen LS-kalvo ohuelle peitinlasille. Mitatut fluoresenssin vaimenemiskuvaajat liuokselle ja kalvolle on esitetty kuvassa 34. I4FS:n fluoresenssin vaimeneminen sekä liuoksessa että LS-kalvolla oli kaksi-eksponentiaalista. Liuoksessa pääkomponenttia on 85 % ja sen elinaika on  $0,29 \pm 0,04$  ns. Toisen komponentin osuus on 15 % ja sen elinajaksi laskentaohjelma antoi  $0,045 \pm 0,003$  ns. Tämä elinaika on lyhyempi kuin laitteen aikaresoluu-tio, 75 ps, joten laskettu elinaika ei ole tarkka. LS-kalvolla pääkomponentin, 89 %, elinaika,  $0,30 \pm 0,06$  ns, oli lähes sama kuin liuoksessa. Toisen komponentin, 11 %, elinaika oli pidempi,  $1,10 \pm 0,33$  ns. Sekä FLM että TCSPC antoivat yhtenevät tulokset LS-kalvolta.



**Kuva 34.** I4FS-liuoksen ja 2 kerros LS-näytteen fluoresenssin vaimenemiskuvaajat. Mitauksessa liuokselle viritysaallonpituus on 405 nm ja monitorointi 480 nm ja kalvolle viritysaallonpituus on 483 nm ja monitorointi 620nm.

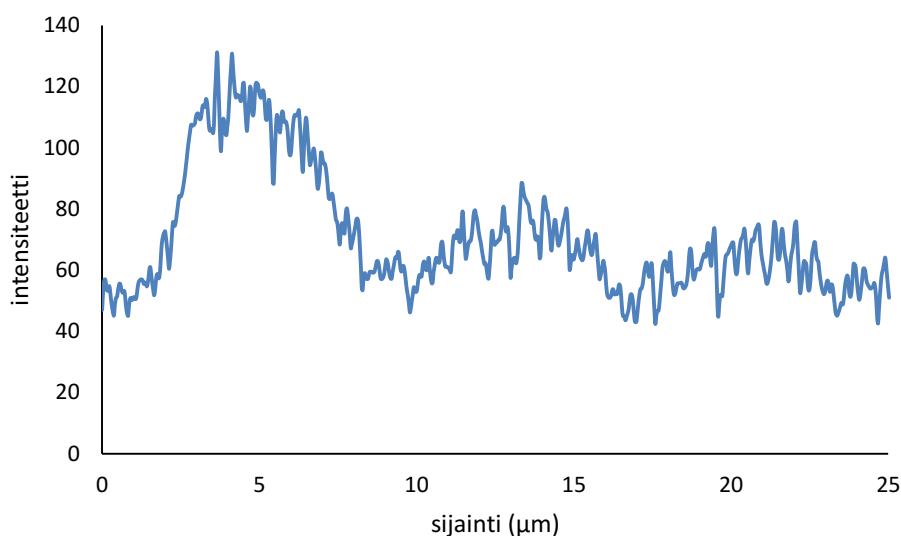


**Kuva 35.** FLM-kuvat 1 kerroksiselle I4FS:n LS-kalvolle. Kuvat on esitetty samalla elin-aika-asteikolla, joka on esitetty kuvassa oikealla, kuvien koko on  $25\ \mu\text{m} \times 25\ \mu\text{m}$  ja viritysaallonpituus on 483 nm. Näytteet on kuvattu 100-kertaisesti suurentavalla öljymersio-objektiivilla. Kuva a) on kohdennettu lasin ja kalvon rajapintaan ja kuvat b) ja c) on kohdennettu maksimi-intensiteettiin keskelle kalvoa. FLM-kuvissa väri kuvaa fluoresenssin elinaikaa ja kirkkaus fluoresenssin intensiteettiä.

Kuva 35 on esitetty kolme FLM-kuvaa 1-kerroksisesta I4FS:n LS-kalvosta. Lasitasoon fokusoidussa kuvassa a) havaitaan vain pistemäisiä heikosti fluoresoivia kohtia. Maksimi-intensiteettiin fokusoiduissa kuvissa b) ja c) sen sijaan näkyy enemmän pitkiä tai pyöreitä kumpumaisia muotoja, joiden fluoresenssin intensiteetti on suurempi kuin kuvassa a). Viimeisestä kuvasta c), jossa on kumpumaisia kohoumia, on mitattu myös poikkileikkauksen intensiteettijakauma, joka on esitetty Kuva 36. Tämän mukaan kummut ovat substraatin suuntaiselta halkaisijaltaan noin  $10\ \mu\text{m}$ . FLM-laitteiston korkeus-suuntaiselle säädölle ei saada kovin tarkkaa mittausta, mutta maksimi-intensiteetti havait-



tiin noin 1-3  $\mu\text{m}$ :n etäisyydellä substraatin pinnasta. Tämä viittaa siihen, ettei kalvo ole yhden molekyylikerroksen paksuinen, vaan koostuu toistensa päälle järjestäytyneistä I4FS-molekyyleistä ja niiden muodostamista mikrokiteistä.

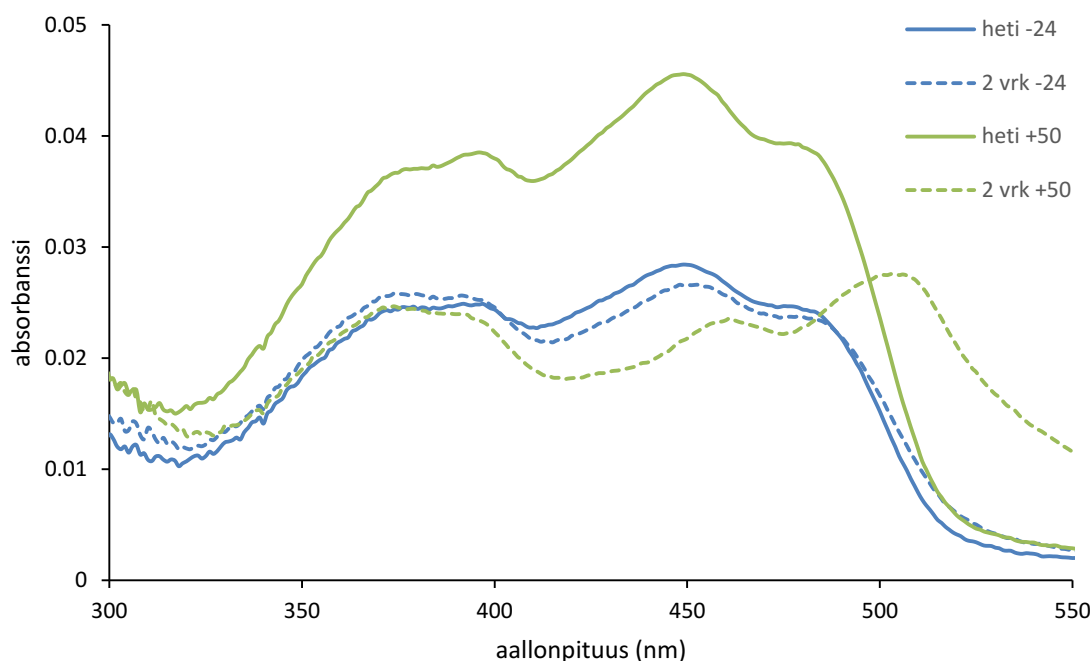


**Kuva 36.** 2 krs LS-kalvon (kuvan 35 c)) FLM kuvan poikkileikkauksen intensiteettikauma.

## 6.5 Säilytyslämpötilan vaikutus

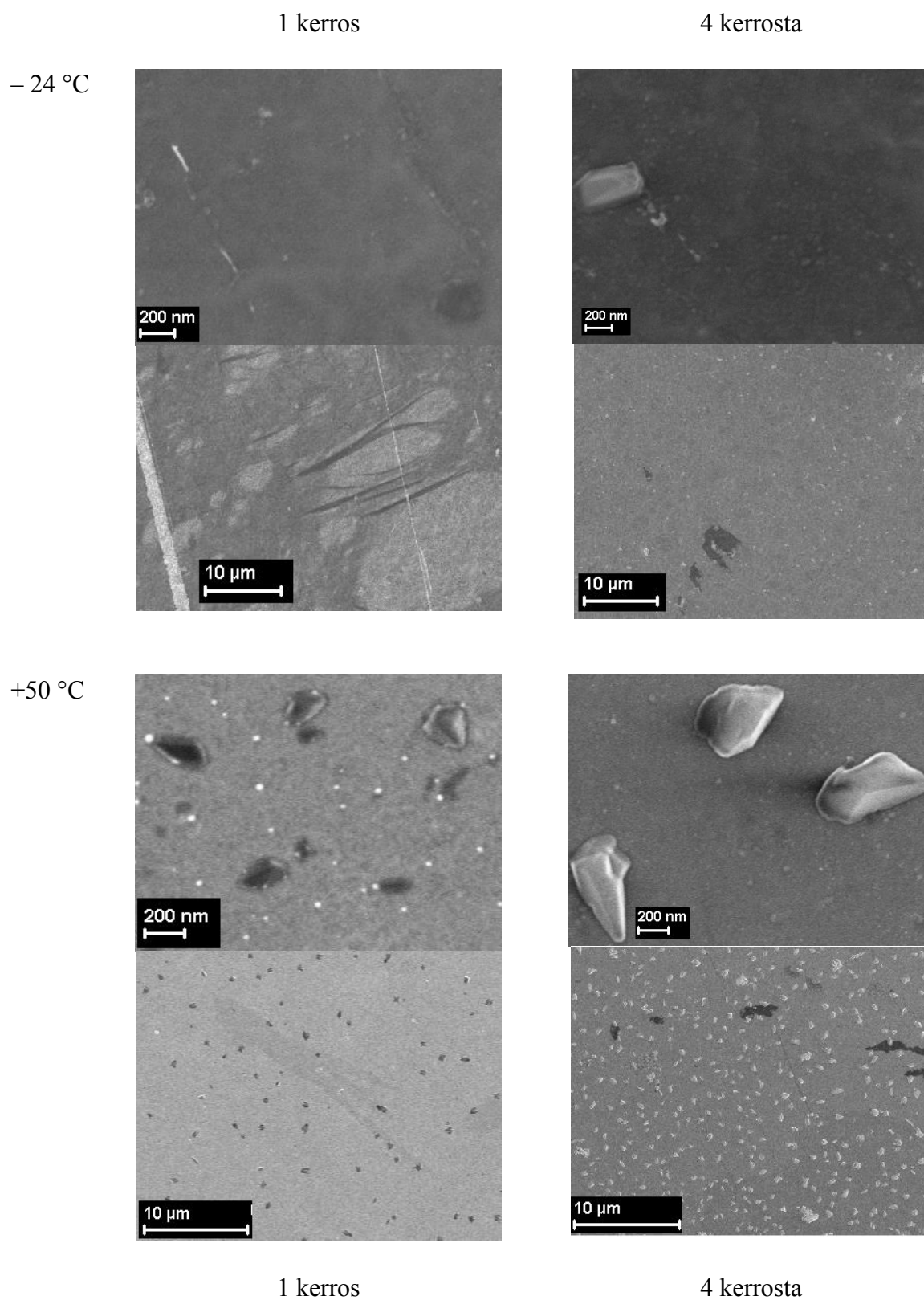
Säilytyslämpötilan vaikutusta I4SF:n LS-kalvojen ominaisuuksiin tutkittiin valmistamalla neljä näytettä. Absorptiospektrin mittaamisen jälkeen näytteitä pidettiin valolta suojattuna neljässä eri lämpötilassa, jotka olivat +50 °C, +21 °C, +4 °C ja -24 °C. +50 °C lämpötilassa näyte oli vain 4 tuntia, minkä jälkeen sitä säilytettiin huoneenlämmössä.

Kuva 37 esitetyistä absorptiospektreistä huomataan, että -24 °C lämpötilassa spektri muuttuu hyvin vähän ja vastaavasti +50 °C lämpötilassa 375nm/450nm absorbanssien suhde muuttuu eniten ja kuvaaja levenee pidemmille aallonpituuksille. Lisäksi muodostuu uusi absorptiovyö 505 nm kohdalle. Muissa näytteissä spektrien muoto ei muutu vaan ainoastaan absorbanssi laskee ajan funktiona ja näitä ei sen vuoksi esitetä Kuva 37.



**Kuva 37.** Kahdessa eri lämpötilassa,  $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$  ja  $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , säilytettyjen 2 kerroksisten LS-kalvojen absorptiospektrit heti ja 2 vuorokauden kuluttua.

Pyyhkäisyelektronimikroskooppia eli SEM:iä varten valittiin kaksi säilytyslämpötilaa, joissa säilytettyjen näytteiden arvioitiin absorptiospektrien perusteella poikkeavan toisistaan mahdollisimman paljon. Päädyttiin lämpötiloihin  $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$  ja  $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , joihin kumpaankin valmistettiin 1 ja 4 kerroksiset LS-kalvonäytteet. Näytteet on nimetty: 1krs+ $50^{\circ}\text{C}$ , 4krs+ $50^{\circ}\text{C}$ , 1krs- $24^{\circ}\text{C}$  ja 4krs- $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Kuva 38 on esitetty kustakin näytteestä kaksi SEM-kuvaa eri mittakaavassa.



**Kuva 38.** SEM-kuvat 1 ja 4 kerroksisista LS-kalvoista, jotka ovat olleet joko pakastimessa -24 °C tai uunissa +50 °C. Kunkin kuvaparin ylemmän kuvan mittakaava on 200 nm ja alemman 10 μm.

Kuva 38 havaitaan I4FS:n LS-kalvon epätasaisuus 1 ja 4 kerroksisissa näytteissä eli nano- ja mikroskaalassa. Pakastimessa olleissa näytteissä 1krs-24 °C ja 4krs-24°C nähdään vaaleiden ja tummien laattojen ja täplien vuorottelua. Seassa näkyy raitoja ja yksittäisiä vaaleita kidemäisiä muotoja. Uunissa olleista näytteistä 1krs+50°C ja 4krs+50°C, ei näy vastaavia laattoja, mutta molemmissa on epätasaisuutta. Uuninäytteistä nähdään tasaisesti jakautuneita kidemäisiä vaaleita kohtia. Vaikuttaa siltä, kuin osa kalvosta olisi sulanut uunissa ja jäähtyessään kiteytynyt kalvon päälle 3D kiteiksi. Vastaavaa teräväreunaista epätasaisuutta tai kiteisyyttä esiintyy huomattavasti vähemmän -24 °C olleissa näytteissä, mutta niissä erottuu epätasaisemman värinen laikukas pohja.

Vaaleiden ja tummien kohtien vaihtelut -24 °C näytteissä ovat vastaavaa epätasaisuutta kuin kohoumat FLM-kuvissa Kuva 35. Koska SEM-kuvissa havaitaan fyysistä epätasaisuutta, voi myös fluoresenssin intensiteetin epätasaisuus johtua tästä, jolloin fokuksointi on osittain liian korkealla. Kuitenkin BAM-kuvat (Kuva 22) ovat melko tasaiset, tosin suuremmat kooltaan, joten voi olla, että epätasaisuus lisääntyy kasvatuksen tai sen jälkeisen järjestäytymisen yhteydessä.

## 7. YHTEENVETO

Työssä selvitetään, voiko jodotetrafluorostilbeenistä, I4FS, valmistaa Langmuir-kalvoja ja edelleen kasvattaa LB- tai LS-kalvoja. Tämän lisäksi selvitetään aggregoituuko kalvo ja millaisia ilmiötä kalvon molekyyliarakenteessa tapahtuu valmistuksen ja säilytyksen aikana.

Tutkimusmenetelminä käytettiin spektroskopisia menetelmiä, kuten absorptio- ja fluoresenssispektroskopiaa. Langmuir-kalvon kasvua selvitettiin BAM-kuvien avulla ja valmistuksen jälkeisen lämpötilan vaikutusta SEM-kuvauksen avulla.

Langmuir-kalvoja valmistettaessa havaittiin, että I4FS muodostaa kalvon, joka on voidaan siirtää kvartsilasille LS-kalvoksi. Langmuir-kalvon muodostumista seurattiin BAM-mikroskoopin avulla ja kuvista nähtiin, että I4FS muodostaa lauttoja yhtenäisen kalvon sijaan. Tavoitepintapaineessa kalvo on aggregoitunut ja pääosin kiteinen. Valmistettu LS-kalvo ei ole tasainen yhden molekyylikerroksen paksuinen ja myös valmistetut monikerroskalvot ovat paksuudeltaan epätasaisia, mutta niiden valmistaminen on mahdollista. Valmistusolosuhteiden merkitystä tutkittiin säilyttämällä näyteliuosta erilaisissa lämpötiloissa ja sitten vertaamalla näistä valmistettujen LS-kalvojen absorptiospektrejä. Havaittiin, että paras tapa on valmistaa kalvo mahdollisimman kylmästä näyteliuoksesta. Tällöin I4FS:n muutokset tapahtuvat vasta kalvon valmistuksen jälkeen, jolloin muutoksen absorptiospektrien mittauksen aikana havaitaan paremmin, kun lähtötilanteen spektri poikkeaa mahdollisimman paljon siitä mihin spektri ajan tai lämmön vaikutuksesta muuttuu.

Valmistettuja LS-kalvoja säilyttiin erilaisissa lämpötiloissa ja valaistuksissa ja tutkittiin näiden ja ajan vaikutusta absorptio- ja fluoresenssispektreihin. Lämpötilan vaikutuksesta pintarakenteeseen tutkittiin myös SEM-kuvien avulla. Absorptiospektreistä havaitaan maksimiabsorbanssin siirtymistä ja pienentymistä lämmön ja valon vaikutuksesta. Vastaavasti havaittiin, että näytekalvon säilyttäminen kylmässä ja pimeässä hidastaa tai estää muutokset. Fluoresenssispektroskopialla tutkittiin erilaisten valon aallonpituuksien vaikutusta spektriin ja havaittiin, että vain mittausten aikana valolle altistuneen näytteen, fluoresenssin intensiteetti aluksi kasvaa ja sitten laskee. Jos kalvo altistuu valolle jatkuvasti, fluoresenssin intensiteetti alkaa heti pienentyä ja lopulta lähestyy nollaa, joten molekyylin oletetaan hajoavan valon vaikutuksesta. Yhdisteellä havaittiin sekä valo- että pimeäreaktio, joista valoreaktio on pimeäreaktiota nopeampi.

Mittausten perusteella havaitaan I4FS:n aggregoitumista. Absorptiospektreissä ei havaittu palautuvia muutoksia, joten cis-trans-isomeroituminen on kalvoilla estynyt ag-

gregoitumisen johdosta. I4FS:n kloroformiliuoksen ja kalvon absorbtiospektrien välillä on selvä ero, näistä eroista voidaan päätellä yhdisteen aggregoituvan kiinteässä muodossa. Halogeenisidoksen muodostuminen on todennäköistä, mutta sitä ei pystytty tässä työssä havaitsemaan. I4FS säilyttää ominaisuutensa parhaiten kylmässä ja pimeässä. Yhdistettä pitäisi mahdollisesti käsitellä hapettomissa oloissa, jolloin se olisi pysyvämpi. Käytettäessä tämän kaltaisia yhdisteitä valmistusolosuhteet ovat kuitenkin tavalliset laboratorio-olot, jolloin I4FS ei ole tarpeeksi kestävä käytettäväksi käytännönsovelluksissa.

## LÄHTEET

1. García-Amorós, J. and Velasco, D. *Recent advances towards azobenzene-based light-driven real-time information-transmitting materials*. Beilstein Journal of Organic Chemistry, 8, 1003-1007, 2012.
2. Dürr, H. and Bouas-Laurent, H. *Photochromism Molecules and Systems*. New York : Elsevier, 1990.
3. M. Kasha, Rawls, H. R. and Ashraf El-Bayoumi, M. *The Exciton model in molecular spectroscopy* 1965.
4. Cavallo, G., Metrangolo, P., Milani, R., Pilati, T., Priimagi, A., Resnati, G. and Terraneo G. The Halogen Bond. *ASC Publications Chemical Reviews* 116 (4), pp.2578-2601 2016.
5. Reusch, W. *Visible and Ultraviolet Spectroscopy. Spectroscopy*. [Online] 5. 5 2013. <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm#uv2>.
6. Shimadzu. *UV: Fundamentals of UV-Vis-NIR Spectroscopy*. [Online] 2017. [http://www.shimadzu.com/an/uv/support/fundamentals\\_index.html](http://www.shimadzu.com/an/uv/support/fundamentals_index.html).
7. Kalliorinne, K., Alpo Kankaanperä, A., Kivinen, A. ja Liukkonen, S.. *Fysikaalinen kemia 3, dynamiikka*. Rauma : Oy Länsi-Suomi, 1990.
8. Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy 3rd edition*. 2006.
9. Rautaniemi, K. *Amorfisen lääkeaineen kiteytymiskinetiikka elinaikaeroitteisella fluoresenssimikroskoopilla*. Tampere <http://urn.fi/URN:NBN:fi:tti-201705241473> 2017.
10. Peter Klán, Jakob Wirz. *Photochemistry of Organic Compounds*. Chippenham : Wiley, 2009.
11. IUPAC. Compiled by McNaught A.D. and A. Wilkinson. *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the "Gold Book"). Blackwell Scientific Publications, Oxford 1997.
12. Mami Tabuchi, Atsuya Momotake, Yoko Kanna, Yoshinobu Nishimura ja Tatsuo Arai. Extremely efficient and long lifetime fluorescence on cis-stilbene contained in a rigid dendrimer. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2011, 10, 1521. 2011. s. [www.rsc.org/pps](http://www.rsc.org/pps).

13. Kakiuchi, K., Azumi, R. and Matsumoto, M. *Efficient Photoisomerization of Hybrid Langmuir-Blodgett Films of Amphiphilic Anionic Azobenzene and Alkylammonium with Long Alkyl Chains*, Molecular Crystals and Liquid Crystals, 425, pp. 47-53, 2004
14. Ueda, Y. and Aoki, N. *Orientation-Control of Liquid Crystal Molecules by Photochromism of Azobenzene*, Molecular Crystals and Liquid Crystals, 425, pp. 159-166, 2004.
15. Takahashi, M., Okuhara, T., Yokohari, T. and Kobayashi, K. *Effect of packing on orientation and cis-trans isomerization of azobenzene chromophore in Langmuir-Blodgett film*. Journal of Colloid and Interface Science 296 pp. 212-219. 2006.
16. Martínez Martínez, V., López Arbeloa, F., Banuelos Prieto, J., López Arbeloa T. and López Arbeloa, I. *Characterization of Rhodamine 6G Aggregates Intercalated in Soled Thin Films of Laponite Clay. I. Absorption Spectroscopy.*, Journal Of Physical Chemistry, 108, 52 pp. 20030-20037, 2004
17. Heger, D., Jirkovský, J. Klán, P. *Aggregation of Methylene Blue in Frozen Aqueous Solution Studied by Absorption Spectroscopy. Journal of Physical Chemistry. A* 109, 6701-6709.2005.
18. Spooner, S. P. and Whitten, D. G. *Energy and Electron-Transfer Processes through Langmuir-Blodgett Multilayers Formed from  $\alpha,\omega$ -Diphenylpolyene Surfactants*. Journal of the American Chemical Society 116, 1240-1248,1994.
19. Bhattacharjee, S. and Bhattacharya, S. *Remarkable Role of C-I\*\*\*N Halogen Bonding in Thixotropic 'Halo' gel Formation*. Langmuir. 32, pp.. 4270-4277 2016
20. Bent, H. *Structural Chemistry of Donor-Acceptor Interactions*. Chemical Reviews. 68 (1968) (5) 587-648.
21. Gilday, L. C., Robinson, S. W., Barendt, T. A., Langton, M. J., Mullaney, B. R. and Beer, B. D. *Halogen Bonding in Supramolecular Chemistry* American Chemical Society Chemical Reviews 115 (15), 7118-7195 2015
22. Cariati, E., Cavallo, G., Forni, A., Leem, G., Metrangolo, P., Meyer, F., Pilati, T., Resnati, G., Righetto, S., Terraneo, G. and Tordi, E. *Self-Complementary Nonlinear Optical-Phores Targeted to Halogen Bond-Driven Self-Assembly of Electro-Optic Materials*. Crystal Growth & Design 11 (12), 5642-5648 2011
23. Fernandez-Palacio, F., Poutanen, M., Saccone, M., Siiskonen, A., Terraneo, G., Resnati, G., Ikkala, O., Metrangolo, P. and Priimagi, A. *Efficient Light-Induced Phase Transition in Halogen-Bonded Liquid Crystals*. Chemistry of Materials 28 (22), 8314-8321 2016



24. Gareth, Roberts. *Langmuir-Blodgett Films*. New York : Plenum Press, 1990
25. Schwarts, D. K. LB films Formation and structure of. *Encyclopedia on Materials: Science and Technology*, ss. 4392-4399 2001.
26. KSV, Instruments LDT. Langmuir and Langmuir-Blodgett Films. *Application Note #107*. [www.ksvltd.fi](http://www.ksvltd.fi).
27. “Why brewster angle microscopy - bam,” tech. rep., KSV Instruments LTD, Höyläämötie 11 B, 00380 Helsinki, Finland.
28. Roberts, G. *Langmuir-Blodgett Films*. New York : A Division of Plenum Publishing Corporation, 1990